Cholensäuren mit im Ring C gelegener Doppelbindung

Verkürzte Fassung der

INAUGURAL-DISSERTATION

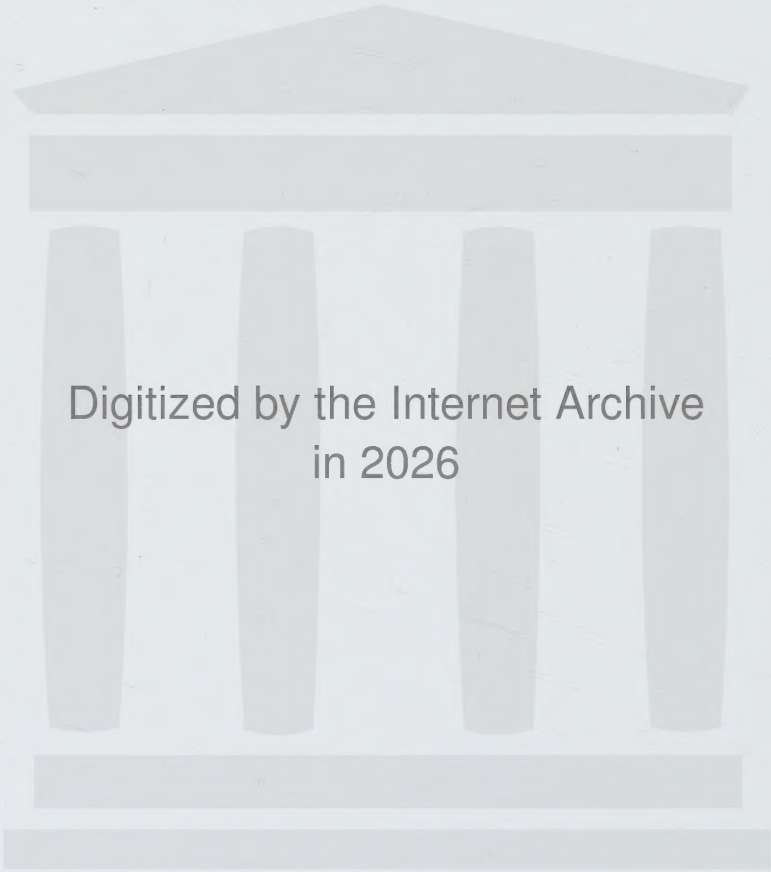
zur Erlangung der philosophischen Doktorwürde, vorgelegt der philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Basel

von

Hedwig Barbara Alther
Dipl. Ing. chem. E.T.H. Zürich

aus St. Gallen

Basel
Buchdruckerei E. Birkhäuser & Cie. A.G.
1943


Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546709_0009

Cholensäuren mit im Ring C gelegener Doppelbindung

Verkürzte Fassung der

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der philosophischen Doktorwürde, vorgelegt der philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Basel

von

Hedwig Barbara Alther
Dipl. Ing. chem. E.T.H. Zürich

aus St. Gallen

Basel
Buchdruckerei E. Birkhäuser & Cie. A.G.
1943

Genehmigt von der philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät auf Antrag der Herren Professoren Dr. *T. Reichstein* und Dr. *P. Ruggli*.

Basel, den 2. Juli 1942.

Prof. Dr. *A. Portmann*
Dekan.

Fräulein *Hedwig Barbara Alther* wurde von der philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Basel am 2. Juli 1942 erlaubt, diese verkürzte Fassung ihrer am 2. Juli 1942 genehmigten Inauguraldissertation drucken zu lassen. Die vollinhaltliche Arbeit mit dem Titel:

Cholensäuren mit im Ring C gelegener Doppelbindung

kann eingesehen oder entliehen werden:

1. im Pharmazeutischen Institut der Universität Basel;
2. in der Universitätsbibliothek Basel;
3. in der Schweizerischen Landesbibliothek in Bern.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Separatabdruck aus Helvetica Chimica Acta, Volumen XXV, Fasciculus Quintus, S. 805—821 (1942) und Volumen XXVI, Fasciculus Secundus, S. 492—511 (1943).

Über Gallensäuren und verwandte Stoffe.
Cholen-(11)-säure und 11,12-Dioxy-cholansäure

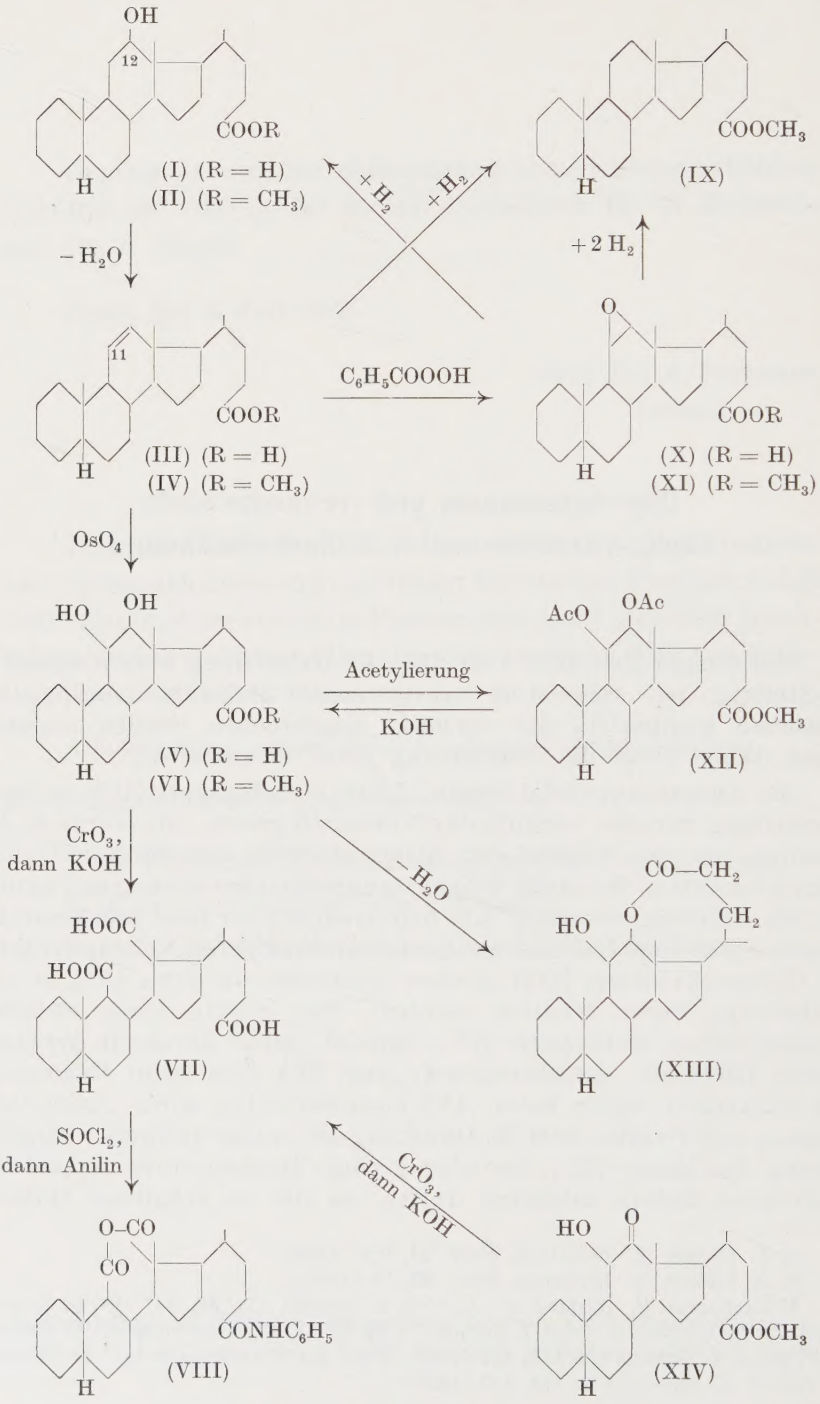
Vor einiger Zeit sind Versuche zur Herstellung verschiedener in 11-Stellung mit Sauerstoff substituierter Sterinabkömmlinge beschrieben worden[1][2]), die vorzeitig abgebrochen werden mussten. Diese Arbeit stellt die Fortsetzung jener Versuche dar.

Als Ausgangsmaterial diente 12 β-Oxy-cholansäure (I)[2]), zu deren Herstellung wir eine vereinfachte Vorschrift geben. Sie wurde in Anwendung der von *Wieland* und Mitarbeitern für verschiedene Gallensäuren benützten Methodik[3]) einer thermischen Zersetzung im Vakuum bei 240—300° unterworfen. Aus dem Gemisch der Reaktionsprodukte konnte neben dem Lacton von (I) und unabgeklärten Nebenprodukten die Cholen-(11)-säure (III) in einer Ausbeute von etwa 40 % in krystallisierter Form erhalten werden. Sie lieferte einen ebenfalls krystallisierten Methylester (IV), der sich weiter durch ein krystallisiertes Dibromid charakterisieren liess, aus dem beim Entbromen mit Zinkstaub reiner Ester (IV) zurückerhalten wird. Auch beim Kochen mit Pyridin tritt Entbromung ein, unter teilweiser Regenerierung des Esters (IV), der aber geringe Mengen eines doppelt ungesättigten Esters enthalten dürfte, da das so erhaltene Material

[1]) *J. Barnett, T. Reichstein*, Helv. **21**, 926 (1938).

[2]) *J. Barnett, T. Reichstein*, Helv. **22**, 75 (1939).

[3]) Cholsäure: *H. Wieland, F. J. Weil*, Z. physiol. Ch. **80**, 287 (1912); Desoxycholsäure: *H. Wieland, H. Sorge*, Z. physiol. Ch. **98**, 62 (1916); Lithocholsäure: *H. Wieland, P. Weyland*, Z. physiol. Ch. **110**, 123 (1920); Über den Mechanismus vgl : *H. Wieland, E. Boersch*, Z. physiol. Ch. **110**, 143 (1920).


OH
12
COOR
H
(I) (R = H)
(II) (R = CH3)
+H2
+H2
COOCH3
(IX)
−H2O
+2 H2
11
C6H5COOOH
O
COOR
H
(III) (R = H)
(IV) (R = CH3)
(X) (R = H)
(XI) (R = CH3)
OsO4
HO
OH
Acetylierung
KOH
AcO
OAc
(V) (R = H)
(VI) (R = CH3)
(XII)
CrO3,
dann KOH
−H2O
HOOC
HOOC
COOH
(VII)
CO—CH2
HO
O
CH2
(XIII)
SOCl2,
dann Anilin
CrO3,
dann KOH
O–CO
CO
CONHC6H5
(VIII)
HO
O
(XIV)

im U.V.-Absorptionsspektrum selektive Absorption bei etwa 246 mμ zeigt. Dass diese Säure noch das unveränderte Kohlenstoffgerüst enthält, folgt aus dem Ergebnis der Hydrierung ihres Methylesters (IV), wobei der bekannte Cholansäure-methylester (IX)[1]) resultierte. Die Lage der Doppelbindung ergab sich wie folgt durch 2-stufige Oxydation. Die Hydroxylierung des Methylesters (IV) mit Osmiumtetroxyd nach *Criegee*[2]) lieferte einen der vier theoretisch möglichen 11,12-Dioxy-cholansäure-methylester (VI), der in zwei verschiedenen Krystallisomeren auftrat. Aus diesem wurde durch Oxydation mit Chromsäure und anschliessende Verseifung eine Tricarbonsäure (VII) erhalten, die sich als identisch mit der Tricarbonsäure erwies, die nach *H. Wieland* und *P. Weyland*[3]) durch Oxydation von 12-Keto-cholansäure mit Salpetersäure oder besser von 11-Oxy-12-keto-cholansäure-methylester (XIV)[4]) mit Chromsäure und anschliessende Verseifung entsteht[5]) und deren Konstitution entsprechend Formel (VII) somit gesichert ist. Zum weiteren Nachweis der Identität wurden die Tricarbonsäuren beider Provenienz mit Thionylchlorid erwärmt und das entstehende Reaktionsprodukt mit überschüssigem Anilin umgesetzt. In beiden Fällen wurde dasselbe Neutralprodukt erhalten, dessen Analyse auf das Anhydrid-anilid der Formel (VIII) stimmte.

Der Konstitutionsbeweis liess sich noch auf einem anderen Wege führen. Der Ester (IV) lieferte durch Umsetzung mit Benzopersäure nach *Prileschajew*[6]) den Oxydoester (XI), aus dem sich durch alkalische Verseifung auch die entsprechende Oxydosäure (X) bereiten liess. Bei der Hydrierung dieses Oxydoesters (XI) mit *Raney*-Nickel unter Druck wurde ein Gemisch von Cholansäure-methylester (IX) und 12β-Oxy-cholansäure-methylester (II) erhalten. Der Letztere kann nur entstehen, wenn sich der Oxydoring in 11,12-Stellung befindet. Unter der Voraussetzung, dass bei der hydrierenden Aufspaltung kein Konfigurationswechsel an C_{12} stattfindet, wäre der Oxydring in (X) und (XI) somit als β-ständig, also vor der Tafelebene liegend, zu bezeichnen.

Der oben erwähnte 11,12-Dioxy-cholansäure-methylester (VI) gibt bei der Acetylierung durch Kochen mit Essigsäure-anhydrid und Pyridin den ebenfalls gut krystallisierten 11,12-Diacetoxy-cholansäure-methylester (XII). Beide Hydroxylgruppen liessen sich somit acetylieren. Dies ist bemerkenswert, da 11-ständige Hydroxyl-

---

[1]) *A. Windaus, A. Bohne*, A. **433**, 286 (1923).

[2]) *R. Criegee*, A. **522**, 75 (1936); Z. angew. Ch. **51**, 519 (1938).

[3]) *H. Wieland, P. Weyland*, Z. physiol. Ch. **110**, 141 (1920).

[4]) *J. Barnett, T. Reichstein*, Helv. **21**, 926 (1938).

[5]) Vgl. die analoge Oxydation der freien 11-Oxy-12-keto-säure, *H. Wieland, Th. Posternak*, Z. physiol. Ch. **197**, 22 (1931).

[6]) *N. Prileschajew*, B. **42**, 4811 (1909); C. **1911**, I, 1279; **1912**, II, 2090.

gruppen in Sterinderivaten sich bisher kaum oder nur äusserst schwer acetylieren liessen. Voraussichtlich wird die Acetylierbarkeit aber stark von der räumlichen Lage der 11-ständigen Hydroxylgruppe beeinflusst, und im obigen Ester (VI) könnte das leichter acetylierbare Epimere vorliegen.

Durch Erwärmen lässt sich die freie 11,12-Dioxy-cholansäure (V) in schlechter Ausbeute in ein Lacton der vermutlichen Formel (XIII) überführen, das durch Oxydation ins entsprechende Ketolacton übergeht. Dieser Stoff besitzt in verschiedener Beziehung Interesse, doch hat die relativ schwere Zugänglichkeit weitere Versuche noch nicht gestattet.

Experimenteller Teil.

(Alle Schmelzpunkte sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert.)

Vereinfachte Herstellung von 12 β-Oxy-cholansäure-methylester (II).

10 g 3-Keto-12-acetoxy-cholansäure-methylester[1]) vom Smp. 125°, 15 cm³ absoluter Alkohol, 10 g Kaliumhydroxyd und 10 g Hydrazinhydrat wurden in einem geräumigen Hartglas-Destillierkolben unter ständigem Umschwenken allmählich im Ölbad erwärmt. Nachdem alle festen Anteile in Lösung gegangen und die Hauptmenge des Lösungsmittels abdestilliert war, trat bei 220° Badtemperatur lebhaftes Schäumen ein. Es wurde so lange bei dieser Temperatur gehalten, bis die inzwischen fast feste Masse nur noch leichte Blasen bildete. Hierauf wurde das Ölbad bis 240° erwärmt und noch 15 Minuten bei dieser Temperatur gehalten, bis jede Gasentwicklung aufhörte und eine feste Masse zurückblieb. Nach Abkühlen wurde mit Wasser versetzt, mit Äther überschichtet und unter Schütteln wässrige Salzsäure bis zur bleibenden kongosauren Reaktion zugegeben, worauf bis auf wenig harzige Anteile, die vernachlässigt wurden, alles in Lösung ging. Die mit Wasser gewaschene Ätherlösung wurde zur sicheren Reinigung mit überschüssiger ätherischer Diazomethanlösung versetzt, der Überschuss nach 5 Minuten abdestilliert und die Lösung hierauf mit verdünnter Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand gab aus Methanol 7,8 g 12 β-Oxy-cholansäure-methylester vom Smp. 118—120°, der für die weitere Verarbeitung rein genug ist. Umkrystallisieren aus Methanol gab den reinen Ester vom Smp. 120—121°.

Ein noch etwas reineres Rohprodukt unter völliger Vermeidung von Harzbildung erhält man, wenn man folgenden Ansatz statt offen zu erhitzen im Autoklaven oder Bombenrohr 8—14 Stunden

[1]) Vgl. *T. Reichstein, M. Sorkin*, Helv. **25**, 797 (1942).

auf 180° erwärmt: 10 g Ester, 10 g Hydrazinhydrat, Lösung von 5 g Natrium in ca. 50 cm³ absolutem Alkohol.

Cholen-(11)-säure (III).

11,8 g 12 β-Oxy-cholansäure-methylester (II) vom Smp. 120 bis 121° wurden in 70 cm³ Methanol gelöst, mit der Lösung von 2,6 g Kaliumhydroxyd in 5 cm³ Wasser versetzt und 15 Minuten unter Rückfluss gekocht. Nach Zugabe von 10 cm³ Wasser wurde das Methanol im Vakuum entfernt, die alkalische Lösung mit Salzsäure bis zur kongosauren Reaktion versetzt, die ausgefällte Säure mit Äther ausgeschüttelt, die ätherische Lösung mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Die so erhaltene, rohe 12 β-Oxy-cholansäure (I) (11 g) wurde dann in einen geräumigen *Claisen*-Kolben mit Wurstansatz gespült und im Vakuum bei 12 mm im Metallbad allmählich auf 250° erhitzt. Die anfangs farblose Schmelze färbte sich unter lebhaftem Sieden schwach gelb. Die Badtemperatur wurde etwa 2 Stunden bei 250° gehalten, bis die Blasenbildung stark nachgelassen hatte. Während dieser Zeit sublimierte eine kleine Menge nadeliger Krystalle an die kühleren Teile des Kolbens, und Wasser destillierte ab. Anschliessend wurde die Badtemperatur innerhalb 15 Minuten auf 290° gesteigert, und als auch dann keine starke Blasenbildung mehr zu beobachten war, wurde der ganze Inhalt bei 11 mm Druck und 340° Badtemperatur überdestilliert, was in wenigen Minuten beendet war. Das zu einer hellgelben, glasigen Masse erstarrte Destillat wurde in Äther gelöst und mit 2-n. Natronlauge durchgeschüttelt, wobei sich eine reichliche Menge unlöslichen Natriumsalzes ausschied. Die leicht trübe, wässrige Schicht wurde abgelassen, der Äther in einen frischen Scheidetrichter abgegossen und das klebrige Natriumsalz noch mehrmals mit frischem Äther gut durchgeschüttelt und dieser zur Hauptmenge gegeben. Die vereinigten Ätherlösungen wurden noch mehrmals mit kleinen Portionen Natronlauge und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Das verbliebene Neutralprodukt wog 0,9 g. Durch Umkrystallisieren aus Petroläther lieferte es 0,2 g 12 β-Oxy-cholansäure-lacton als farblose Nadeln vom Smp. 232—233°. Nochmaliges Umkrystallisieren aus Alkohol brachte den Smp. auf 246—248°, in guter Übereinstimmung mit den Angaben von *H. Wieland*[1]).

Die vereinigten alkalischen Auszüge und Waschwässer wurden in den Scheidetrichter mit dem unlöslichen Natriumsalz gegeben, das Ganze mit Salzsäure bis zur kongosauren Reaktion versetzt und mit Äther ausgeschüttelt. Die ätherische Lösung wurde mit Wasser

[1]) *H. Wieland*, Z. physiol. Ch. **142**, 191 (1925); *H. Wieland, O. Schlichting*, Z. physiol. Ch. **150**, 267 (1925).

gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Die hellgelbe, harzige, rohe Säure wog 10 g. Eine Probe wurde in der 5-fachen Menge Pentan gelöst, wobei nach kurzer Zeit Krystallisation eintrat, die durch zweistündiges Stehen bei 0° möglichst vervollständigt wurde. Die abgenutschten und mit Pentan gewaschenen Krystalle schmolzen bei 114—132°. Sie wurden aus Äther-Pentan, dann aus Aceton und schliesslich nochmals aus Äther-Pentan umkrystallisiert, wobei farblose Blättchen vom Smp. 133—135° resultierten. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

3,159 mg Subst. gaben 9,30 mg CO_2 und 3,035 mg H_2O *(Schwarzkopf)*

$C_{24}H_{38}O_2$ (358,54) Ber. C 80,39 H 10,68%
Gef. „ 80,34 „ 10,75%

Die Methylierung mit Diazomethan gab den unten beschriebenen Methylester vom Smp. 60°. Eine Probe wurde mit möglichst wenig Chloroform verflüssigt und mit einem Tropfen Tetranitromethan versetzt, wobei deutliche Gelbfärbung eintrat. Einfacher lässt sich die Säure durch kurze alkalische Verseifung des Methylesters rein erhalten.

Cholen-(11)-säure-methylester (IV). Die Hauptmenge der rohen Cholensäure sowie alle Mutterlaugen der zur Krystallisation verwendeten Probe wurden in Äther gelöst und mit ätherischer Diazomethanlösung bis zur bleibenden Gelbfärbung versetzt. Die Mischung wurde 10 Minuten bei Raumtemperatur stehen gelassen, hierauf wurde mit verdünnter Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand (10 g) wurde in Petroläther gelöst, durch eine mit Petroläther bereitete Säule von 250 g Aluminiumoxyd *(Merck*, standardisiert nach *Brockmann)* filtriert, noch 18mal mit je 350 cm^3 tiefsiedendem Petroläther nachgewaschen und jede Fraktion für sich eingedampft. Anschliessend wurde noch mit Petroläther-Benzol-Gemischen, Benzol sowie Benzol-Äther-Gemischen und Äther nachgewaschen.

Die zwei ersten Petrolätherfraktionen gaben etwas farbloses Öl, das keine Krystalle lieferte. Alle folgenden mit Petroläther erhaltenen Eluate gaben nach gutem Trocknen und Lösen in Methanol nach einigem Stehen bei 0°, rascher beim Impfen, reichliche Mengen von farblosen Krystallen, die scharf abgenutscht und mit gekühltem Methanol gewaschen wurden. Aus den vereinigten Mutterlaugen konnte durch Ausfrieren bei —15° noch eine erhebliche Menge von Krystallen erhalten werden. Insgesamt wurden 4,5 g gewonnen, die einen Smp. von 57—59° zeigten.

Aus den mit Benzol-Äther erhaltenen Fraktionen wurde eine kleine Menge 12 β-Oxy-cholansäure-methylester vom Smp. 118—120° (Mischprobe) erhalten.

Der oben genannte Ester war für die meisten Umsetzungen direkt verwendbar. Eine Probe wurde nochmals aus Methanol umkrystallisiert, wobei farblose Nadeln vom Smp. 57—59° resultierten. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{12} = +34{,}1^0 \pm 2^0$ (c = 1,99 in Aceton).

19,506 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{12} = +0{,}68^0 \pm 0{,}02^0$

Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei Zimmertemperatur getrocknet und kurz bei 80° geschmolzen.

3,384 mg Subst. gaben 10,00 mg CO_2 und 3,26 mg H_2O *(Schwarzkopf)*

$C_{25}H_{40}O_2$ (372,57) Ber. C 80,59 H 10,82%
Gef. „ 80,60 „ 10,78%

Der Ester gab in möglichst wenig Chloroform gelöst mit Tetranitromethan eine deutliche Gelbfärbung. Im Molekularkolben liess er sich bei 0,02 mm und 140° Badtemperatur leicht destillieren. In den üblichen organischen Lösungsmitteln ausser in Methanol und Äthanol ist er sehr leicht löslich. Die Mischprobe mit Cholansäuremethylester (IX) vom Smp. 86—87° schmolz bei 53—56° (ein kleiner Rest erst gegen 74°), gab also keine deutliche Schmelzpunktserniedrigung.

11,12-Dibrom-cholansäure-methylester.

200 mg Cholen-(11)-säure-methylester (IV) wurden in 1,5 cm³ Chloroform gelöst und langsam mit der Lösung von 86 mg Brom in 1,3 cm³ Chloroform versetzt, das zuerst sofort entfärbt wurde; erst die letzten Tropfen ergaben Gelbfärbung. Der nach Eindampfen im Vakuum erhaltene Rückstand wurde in wenig Äther gelöst und dieser nach Zusatz von Methanol im Vakuum langsam entfernt, wobei sich Krystalle ausschieden, die mit Methanol gewaschen und nochmals analog umkrystallisiert wurden, wobei 200 mg farbloser Blättchen vom Smp. 102—103° resultierten.

Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 20° getrocknet.

4,061 mg Subst. gaben 3,03 mg AgBr (E.T.H.)

$C_{25}H_{40}O_2Br_2$ (532,4) Ber. Br 30,03 Gef. Br 31,75%

Entbromung mit Zinkstaub. Durch kurzes Erwärmen mit Zinkstaub und etwas Natriumacetat in Eisessig wird aus dem Dibromid der reine Methylester (IV) vom Smp. 58—59° zurückerhalten.

Verkochen mit Pyridin. 52 mg Dibromid wurden mit 1 cm³ absolutem Pyridin 3 Stunden unter Rückfluss gekocht. Nach Entfernung des Pyridins im Vakuum wurde der Rückstand in Äther gelöst, die Lösung mit verdünnter Essigsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der amorphe Rückstand gab erst nach Chromatographie aus Methanol Krystalle vom Smp. 57—59°, die bei der Mischprobe mit (IV) keine Schmelzpunktserniedrigung gaben. Jedoch zeigte das U.V.-Absorptionsspektrum in Hexan ein Maximum bei 246 mμ und log ε - 2,9.

Das Präparat enthielt demnach offenbar als Verunreinigung etwa 6% eines Choladiensäure-methylesters mit konjugierten Doppelbindungen. Ein solcher, der in Hexan bei 245 mμ (log $\varepsilon = 4{,}13$) absorbiert, wird später beschrieben.

Cholansäure-methylester (IX) aus Cholen-(11)-säure-methylester (IV).

Eine Probe des Cholen-(11)-säure-methylesters (IV) vom Smp. 59—61° wurde in Eisessig mit Platinoxyd hydriert, wobei die Wasserstoffaufnahme nach 30 Minuten beendet war. Das Reaktionsprodukt krystallisierte aus Methanol in farblosen Nadeln vom Smp. 86—87°, die mit Tetranitromethan keine Gelbfärbung gaben. Die Mischprobe mit authentischem Cholansäure-methylester (IX), der den gleichen Schmelzpunkt zeigte, gab keine Schmelzpunktserniedrigung. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{11} = +24{,}6^0 \pm 1^0$ ($c = 1{,}955$ in Aceton).

19,533 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{11} = +0{,}48^0 \pm 0{,}02^0$

Die authentische Probe zeigte: $[\alpha]_D^{11} = +25{,}2^0 \pm 1^0$ ($c = 1{,}94$ in Aceton).

19,424 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{11} = +0{,}49^0 \pm 0{,}02^0$

11,12-Dioxy-cholansäure-methylester (VI).

1,3 g Cholen-(11)-säure-methylester (IV) vom Smp. 59—61° wurden in 50 cm³ absolutem Äther gelöst, mit der Lösung von 1 g Osmiumtetroxyd in 50 cm³ absolutem Äther versetzt und 3 Tage bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Die dunkle Lösung wurde zuerst auf dem Wasserbad, dann im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde in 10 cm³ Benzol und 50 cm³ Alkohol gelöst, heiss mit der heissen Lösung von 2 g Kaliumhydroxyd und 2 g kryst. Natriumsulfit in 12 cm³ Wasser versetzt und die Mischung 3 Stunden unter Rückfluss gekocht[1]). Hierauf wurde zur besseren Ausflockung noch die filtrierte Mischung von 2 cm³ gesättigter, wässriger Kochsalzlösung mit 8 cm³ Alkohol zugegeben und noch 1 Stunde weiter gekocht, wobei man das Benzol unter Ersatz durch kochsalzgesättigten Alkohol abdestillieren liess. Hierauf wurde heiss filtriert und mit heissem Alkohol, der mit Kochsalz gesättigt war, erschöpfend ausgewaschen. (Es lässt sich leicht prüfen, ob die Spaltung vollständig erfolgt ist, wenn man den schwarzen Filterrückstand mit Chloroform wäscht. Färbt sich dieses violett, so wird erschöpfend mit Chloroform gewaschen, bis dieses farblos abläuft. Die Filtrate

[1]) Die sonst übliche reduktive Spaltung mit Natriumsulfit in wässrigem Alkohol nach *Criegee* gab nur sehr schlechte Ausbeuten. Dies dürfte daran liegen, dass dabei ein Osmiumester entsteht, der in Alkohol fast unlöslich ist Er löst sich leicht in Chloroform und ziemlich leicht in heissem Benzol und bildet violette Krystalle, die bei 202 –206° schmelzen.

werden eingedampft und der Rückstand wie oben beschrieben nochmals reduktiv gespalten. Die auf dem Filter verbleibenden Osmiumreste können wie üblich zur Regenerierung verwendet werden).

Die alkalischen Filtrate, die höchstens leicht gelblich gefärbt sein sollen, wurden nach Zusatz von Wasser zur Vermeidung des Schäumens mit Essigsäure bis zur leicht lackmussauren Reaktion versetzt und hierauf im Vakuum vom Alkohol völlig befreit. Dann wurde Salzsäure bis zur kongosauren Reaktion zugegeben und mit Äther ausgeschüttelt. Die mit etwas Wasser gewaschenen Ätherlösungen wurden über Natriumsulfat getrocknet und mit ätherischer Diazomethanlösung bis zur bleibenden Gelbfärbung versetzt. Nach 10 Minuten wurde mit wässriger Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Es verblieb ein hellbrauner Rückstand, der 1,24 g wog und nach einigen Stunden krystallin erstarrte.

Zur Reinigung wurde in Benzol gelöst, mit dem 4-fachen Volumen Petroläther versetzt und durch eine mit Petroläther bereitete Säule von 30 g Aluminiumoxyd filtriert. Es wurde zuerst mehrmals mit Benzol-Petroläther (1 : 4), dann mit Benzol-Petroläther (1 : 1) und weiter mit absolutem Benzol sowie mit Benzol-Äther-Gemischen nachgewaschen. Die ersten Fraktionen gaben eine kleine Menge Cholen-(11)-säure-methylester (IV). Die mit Benzol-Petroläther (1 : 1), sowie besonders die mit absolutem Benzol erhaltenen Filtrate gaben beim Eindampfen Rückstände, die aus wenig absolutem Äther mit Petroläther krystallisierten. Es wurden zwei Formen beobachtet, entweder farblose, gerade abgeschnittene, dünne Nadeln vom Smp. 83—85°, deren Schmelze bei weiterem Wärmen meist rekrystallisiert und bei 102—104° erneut schmilzt, oder grobe, zu Büscheln vereinigte Nadeln vom Smp. 102—104°. Die mit Äther eluierten Fraktionen gaben nur noch sehr wenig amorphes Material.

Die aus den erwähnten Fraktionen erhaltenen Krystalle erwiesen sich als identisch und wurden vereinigt. Aus den entsprechenden Mutterlaugen konnte noch eine weitere Menge durch starkes Einengen und allmähliches Zusatz von Pentan gewonnen werden. Total wurden 0,74 g erhalten. Zur Reinigung wurde in absolutem Äther gelöst, stark eingeengt und mit Pentan versetzt. Beim Animpfen trat jeweils rasche Krystallisation ein, die durch weiteren Pentanzusatz vervollständigt wurde. Je nach den zum Impfen verwendeten Krystallen konnte die tiefschmelzende Form vom Smp. 83—85° oder die hochschmelzende Form vom Smp. 103—104° erhalten werden. Auch durch Impfen der Schmelze liess sich die tiefschmelzende Form leicht in die hochschmelzende umwandeln. Es handelt sich somit um Krystallisomerie. Zum Umkrystallisieren ist auch Methanol geeignet. Der Dioxyester (VI) gibt mit Tetranitro-

methan keine Gelbfärbung. Die spez. Drehung eines Präparates vom Smp. 83—85° betrug: $[\alpha]_D^{16} = +11{,}3° \pm 1°$ (c = 1,86 in Methanol).

18,85 mg Subst. zu 1,0125 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{16} = +0{,}21° \pm 0{,}02°$

Ein Präparat vom Smp. 103—104° zeigte die spez. Drehung von: $[\alpha]_D^{15} = +12{,}2° \pm 1°$ (c = 1,973 in Methanol).

19,725 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{15} = +0{,}24° \pm 0{,}02°$

Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

5,114 mg Subst. (Smp. 83—85°) gaben 13,85 mg CO_2 und 4,73 mg H_2O *(Schoeller)*
5,035 mg Subst. (Smp. 103—104°) gaben 13,635 mg CO_2 und 4,58 mg H_2O *(Schoeller)*
3,039 mg Subst. (Smp. 103—104°) gaben 1,90 mg AgJ *(Zeisel) (Schoeller)*

$C_{25}H_{42}O_4$ (406,59)	Ber. C 73,85	H 10,41	$-OCH_3$ 7,64%
Präparat Smp. 83—85°	Gef. „ 73,91	„ 10,35	—	—
„ „ 103—104°	Gef. „ 73,90	„ 10,18	„ 8,26%

11,12-Dioxy-cholansäure (V).

30 mg 11,12-Dioxy-cholansäure-methylester (VI) wurden mit der Lösung von 8 mg Kaliumhydroxyd in 0,5 cm³ Methanol 15 Minuten gekocht. Dann wurde etwas Wasser zugegeben, das Methanol im Vakuum entfernt und nach Zusatz von Salzsäure mit Äther ausgeschüttelt. Die Ätherlösung wurde mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, stark eingeengt und mit Pentan versetzt. Die Säure krystallisierte in kleinen, zu kompakten Drusen vereinigten Nadeln vom Smp. 211—214°. Sie ist leicht löslich in Methanol, schwerer in Äther und fast unlöslich in Petroläther. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{11} = +3{,}2° \pm 1°$ (c = 1,863 in Dioxan).

18,651 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{11} = +0{,}06° \pm 0{,}02°$

11,12-Diacetoxy-cholansäure-methylester (XII).

100 mg 11,12-Dioxy-cholansäure-methylester (VI) wurden mit 0,6 cm³ Essigsäure-anhydrid und 1 cm³ Pyridin 8 Stunden unter Rückfluss gekocht. Dann wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand in Äther gelöst, mit Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand (118 mg) wurde aus Methanol umkrystallisiert und gab 80 mg farblose Stäbchen vom Smp. 108—110°. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{13} = +1{,}5° \pm 1°$ (c = 1,94 in Aceton).

19,401 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{13} = +0{,}03° \pm 0{,}02°$

Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

3,837 mg Subst. gaben 9,985 mg CO_2 und 3,170 mg H_2O *(Schoeller)*

$C_{29}H_{46}O_6$ (490,66)	Ber. C 70,98	H 9,45%
	Gef. „ 71,02	„ 9,25%

Ein analoger Ansatz wurde im Bombenrohr auf 200° erhitzt. Nach dem Eindampfen im Vakuum wurde der braune Rückstand mit verdünnter Salzsäure und Äther ausgeschüttelt, die Ätherlösung

mit ätherischem Diazomethan versetzt und nach 10 Minuten mit Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wurde über 0,5 g Aluminiumoxyd chromatographisch gereinigt. Aus den mit Benzol-Petroläther (1 : 1) erhaltenen Filtraten krystallisierte 11,12-Diacetoxy-cholansäure-methylester in Stäbchen, die bei 104—106° schmolzen. Die Mischprobe mit dem analysierten Präparat gab keine Schmelzpunktserniedrigung.

Zur weiteren Sicherstellung der Tatsache, dass wirklich beide Hydroxylgruppen acetyliert waren, wurde der folgende Oxydationsversuch angestellt:

20 mg 11,12-Diacetoxy-cholansäure-methylester (XII) wurden in 0,2 cm³ reinstem Eisessig gelöst, mit 0,25 cm³ 2-proz. Chromtrioxyd-Eisessiglösung versetzt und 16 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand in Äther gelöst, mit Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand (21 mg) krystallisierte aus Methanol. Die farblosen Nadeln schmolzen bei 106—108° und gaben bei der Mischprobe mit dem Ausgangsmaterial keine Schmelzpunktserniedrigung.

Verseifung. 16 mg 11,12-Diacetoxy-cholansäure-methylester (XII) wurden 1 Stunde mit der Lösung von 12 mg Kaliumhydroxyd in 2 cm³ Methanol unter Rückfluss gekocht. Die in üblicher Weise isolierte Säure wurde mit ätherischer Diazomethanlösung versetzt. Der Methylester krystallisierte aus Äther-Pentan in groben Nadeln vom Smp. 100—103°. Die Mischprobe mit dem Dioxyester (VI) gab keine Schmelzpunktserniedrigung.

11,12-Dioxy-cholansäure-lacton (XIII).

117 mg 11,12-Dioxy-cholansäure wurden in einem einseitig zugeschmolzenen Glasrohr mit zwei Verengungsstellen im Hochvakuum bei 0,05 mm langsam destilliert. Die Temperatur des Heizblocks wurde etwa 1 Stunde auf 190—210° gehalten, dann im Verlauf einer halben Stunde auf 250° und schliesslich bis auf 350° gesteigert. Das in Äther gelöste gelbliche, glasige Destillat wurde durch mehrmaliges Ausschütteln mit verdünnter Natronlauge in Neutralteile und Säuren getrennt. Die neutrale ätherische Lösung wurde mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft, wobei 18 mg Rückstand verblieben, der aus Äther-Pentan in feinen Nädelchen krystallisierte, die bei 236—237° schmolzen.

Die alkalische Lösung wurde mit Salzsäure kongosauer gemacht, mit Äther ausgeschüttelt, die ätherische Lösung mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand (94 mg) gab aus Äther-Pentan Krystalle (Smp. roh

170—200°), die sich zur Hauptsache als unverändertes Ausgangsmaterial (V) erwiesen. Daher wurden die 94 mg roher Säure gleich nochmals einer analogen Destillation unterworfen, wobei noch 23 mg rohes Lacton, neben 55 mg sauren Anteilen erhalten wurden.

Die aus beiden Neutralteilen durch Digerieren mit Pentan erhaltenen Rohkrystalle wurden zusammen im Molekularkolben bei 0,02 mm und 190° Badtemperatur sublimiert und aus Benzol-Pentan umkrystallisiert. Erhalten wurden 14 mg farbloser Nadeln vom Smp. 240—242°. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{17} = -41{,}8° \pm 2°$ (c = 1,197 in Benzol).

12,119 mg Subst. zu 1,0125 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = -0{,}50° \pm 0{,}02°$

Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

4,542 mg Subst. gaben 12,895 mg CO_2 und 4,12 mg H_2O *(Schoeller)*

$C_{24}H_{38}O_3$ (374,55) Ber. C 76,95 H 10,22%
Gef. „ 77,48 „ 10,15%

Die Lactonisierung der 11,12-Dioxy-cholansäure liess sich auch im Wasserstrahlvakuum bei 12 mm durchführen; die Substanz ging bei langsamer Destillation bei 230—280° Blocktemperatur über.

Oxydation des Lactons. 12 mg des Lactons vom Smp. 240—242° wurden in 0,1 cm³ reinstem Eisessig gelöst, mit der Lösung von 3,21 mg Chromtrioxyd in 0,16 cm³ Eisessig versetzt und 16 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Nach Eindampfen im Vakuum und Zusatz von Wasser wurde mit Äther ausgeschüttelt, die Ätherlösung mit verdünnter Schwefelsäure, Natronlauge und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand krystallisierte aus Äther-Pentan in kleinen Blöckchen vom Smp. 152—154°.

Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

2,320 mg Subst. gaben 6,591 mg CO_2 und 2,05 mg H_2O (E.T.H.)

$C_{24}H_{36}O_3$ (372,53) Ber. C 77,37 H 9,74%
Gef. „ 77,53 „ 9,89%

Tricarbonsäure (VII) aus 11 β-Oxy-12-keto-cholansäure-methylester (XIV).

100 mg 11 β-Oxy-12-keto-cholansäure-methylester (XIV)[1]) vom Smp. 106—107° wurden in 2 cm³ reinstem Eisessig gelöst, mit 5 cm³ einer 2-proz. Chromtrioxyd-Eisessiglösung (= 100 mg CrO_3) versetzt und 3 Tage bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann wurde im Vakuum bei 30° Badtemperatur eingedampft, mit wässriger Schwefelsäure versetzt und mit viel Äther ausgeschüttelt. Die Ätherlösung wurde mit Wasser gewaschen und die sauren Anteile durch mehrmaliges Ausschütteln mit kleinen Portionen wässriger Natronlauge ausgezogen. Die verbleibende Ätherlösung gab nach Waschen mit

[1]) *J. Barnett, T. Reichstein,* Helv. **21**, 929 (1938).

Wasser, Trocknen und Eindampfen keinen Rückstand, sodass die Oxydation völlig beendet war.

Die alkalischen Auszüge, die den Mono-ester der Tricarbonsäure (VII) enthalten sollten, wurden zur Verseifung 10 Minuten gekocht und nach dem Erkalten tropfenweise mit konz. Salzsäure bis zur kongosauren Reaktion versetzt. Die ausgefällte Säure wurde mit viel Äther ausgeschüttelt, die Ätherlösung mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wog 90 mg und schmolz bei 249—261°. Umkrystallisieren aus Äther gab 40 mg farbloser Nadeln vom Smp. 258—263° unter Zersetzung. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{11} = +14{,}9^0 \pm 1^0$ (c = 2,00 in Dioxan).

20,001 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{11} = +0{,}30^0 \pm 0{,}02^0$

Das Produkt erwies sich nach Mischprobe als identisch mit einer nach *Wieland* und *Weyland*[1]) aus 12-Keto-cholansäure mit Salpetersäure bereiteten Probe. Der mit Diazomethan bereitete Methylester liess sich nicht krystallisieren.

Anhydrid-Anilid (VIII). 50 mg Tricarbonsäure (VII) wurden mit 0,75 cm³ Thionylchlorid 15 Minuten unter Rückfluss gekocht. Dann wurde das überschüssige Thionylchlorid im Vakuum völlig entfernt, der Rückstand in absolutem Äther gelöst und in die Lösung von 0,5 g Anilin in 20 cm³ absolutem Äther eingegossen, wobei Anilin-hydrochlorid ausfiel. Nach 10 Minuten wurde die Mischung mit verdünnter Salzsäure, Natronlauge, Salzsäure und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wog 55 mg und krystallisierte sofort. Er schmolz roh bei 155—172°. Umkrystallisieren aus Benzol-Äther gab ein farbloses Krystallpulver vom Smp. 176—183°. Zur weiteren Reinigung wurde über Aluminiumoxyd chromatographiert. Die reine Substanz liess sich mit Benzol-Petroläther (1 : 1) eluieren. Die Rohfraktionen zeigten einen doppelten Schmelzpunkt. Sie schmolzen zunächst bei etwa 120°, worauf wieder Erstarren eintrat und definitives Schmelzen bei 181—185°. Nochmaliges Umkrystallisieren aus absolutem Benzol oder Methanol gab farblose, zu Büscheln vereinigte, flache Nadeln vom Smp. 188—189°.

Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

3,748 mg Subst. gaben 10,325 mg CO_2 und 2,87 mg H_2O *(Schoeller)*
3,172 mg Subst. gaben 0,086 cm³ N_2 (20,5°, 755 mm)
$C_{30}H_{41}O_4N$ (479,64) Ber. C 75,10 H 8,26 N 2,92%
Gef. „ 75,17 „ 8,57 „ 3,14%

Tricarbonsäure (VII) aus 11,12-Dioxy-cholansäure-methylester (VI).

35 mg 11,12-Dioxy-cholansäure-methylester (VI) vom Smp. 83—85° wurden in 1 cm³ reinstem Eisessig gelöst, mit 1,5 cm³ einer

[1]) *H. Wieland, P. Weyland*, Z. physiol. Ch. **110**, 141 (1920).

2-proz. Chromtrioxyd-Eisessiglösung (= 30 mg CrO_3) versetzt und 15 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann wurde im Vakuum bei 25° Badtemperatur eingedampft, mit verdünnter Schwefelsäure versetzt und mit Äther ausgeschüttelt. Die Ätherlösung wurde mit Wasser gewaschen und mehrmals mit kleinen Portionen 2-n. Natronlauge ausgeschüttelt. Die Ätherlösung hinterliess nach dem Waschen mit Wasser und Trocknen über Natriumsulfat einen Rückstand von 12 mg Neutralsubstanz.

Die alkalischen Auszüge wurden 15 Minuten gekocht, abgekühlt, tropfenweise mit konz. Salzsäure versetzt und die ausgefällte Säure mit Äther ausgeschüttelt. Die mit Wasser gewaschene Lösung hinterliess beim Eindampfen 24 mg krystallisierte Rohsäure. Dreimaliges Umkrystallisieren aus Äther durch Einengen gab Nadelbüschel vom Smp. 254—260°. Die Mischprobe mit der aus 11 β-Oxy-12-keto-cholansäure-methylester bereiteten Tricarbonsäure gab keine Schmelzpunktserniedrigung.

Anhydrid-anilid (VIII). 4,6 mg der aus (VI) erhaltenen Tricarbonsäure wurden mit 0,2 cm³ Thionylchlorid 30 Minuten unter Rückfluss gekocht. Die Aufarbeitung und weitere Umsetzung geschah wie oben beschrieben. Nach der chromatographischen Reinigung wurden 1 mg farbloser Nädelchen vom Smp. 184° erhalten. Die Mischprobe mit dem oben beschriebenen Vergleichspräparat gab keine Schmelzpunktserniedrigung.

11 β, 12 β-Oxydo-cholansäure-methylester (XI).

668 mg Cholen-(11)-säure-methylester (IV) vom Smp. 59—61° wurden mit der Lösung von 745 mg über das Bariumsalz[1]) gereinigter Benzopersäure in 40 cm³ Chloroform[2]) versetzt und 12 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen.

1 cm³ der verwendeten Benzopersäurelösung (Blindprobe) verbrauchten nach Zusatz von Essigsäure und Kaliumjodid 2,7 cm³ 0,1-n. Natriumthiosulfatlösung. 1 cm³ der Mischung verbrauchte 1,7 cm³ 0,1-n. Natriumthiosulfatlösung. Die Differenz betrug somit 1,0 cm³ und entspricht 1,1 Mol. Dieser Wert war übrigens schon nach einstündigem Stehen erreicht.

Das Chloroform wurde im Vakuum abgedampft, der Rückstand in Äther gelöst, die Lösung mit Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, stark eingeengt und mit Pentan versetzt, wobei reichliche Krystallisation eintrat. Nach dem Abnutschen, Waschen mit Pentan und Trocknen wurden 453 mg farbloser Nadeln vom Smp. 96—97° erhalten. Zur Analyse wurde noch-

[1]) *A. Baeyer, V. Villiger*, B. **33**, 1569 (1900).

[2]) Zur verschiedenen Oxydationsgeschwindigkeit in Äther und Chloroform vgl. *L. Ruzicka, L. Sternbach*, Helv. **23**, 124 (1940).

mals aus Methanol umkrystallisiert und im Hochvakuum bei 80° getrocknet. Der Schmelzpunkt war unverändert.

4,690 mg Subst. gaben 13,240 mg CO_2 und 4,32 mg H_2O *(Schoeller)*

$C_{25}H_{40}O_3$ (388,57) Ber. C 77,27 H 10,38%
Gef. „ 77,04 „ 10,31%

Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{17} = +29{,}4^0 \pm 2^0$ (c = 1,871 in Aceton).

18,944 mg Subst. zu 1,0125 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = +0{,}55^0 \pm 0{,}02^0$

11β,12β-Oxydo-cholansäure (X).

252 mg des Esters (XI) vom Smp. 96—97° wurden in 35 cm³ Methanol gelöst und mit der Lösung von 180 mg Kaliumcarbonat in 3,6 cm³ Wasser 15 Minuten unter Rückfluss gekocht und anschliessend 3 Tage bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Hierauf wurde nochmals 15 Minuten gekocht, mit etwas Wasser versetzt und das Methanol im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mit verdünnter Salzsäure angesäuert, mit Äther ausgeschüttelt und die ätherische Lösung mit wässriger Natronlauge ausgezogen. Aus dem Äther wurden 15 mg unveränderter Ester zurückgewonnen. Die alkalischen Auszüge wurden mit Salzsäure angesäuert, mit Äther ausgeschüttelt, die ätherische Lösung mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wog 200 mg und schmolz bei 154—157°. Durch Umkrystallisieren aus Äther-Pentan wurden farblose Körnchen vom Smp. 155—157° erhalten.

Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

4,744 mg Subst. gaben 13,215 mg CO_2 und 4,26 mg H_2O *(Schoeller)*

$C_{24}H_{38}O_3$ (374,55) Ber. C 76,95 H 10,23%
Gef. „ 76,02 „ 10,05%

Eine Probe der Säure wurde mit Diazomethan methyliert. Der erhaltene Ester schmolz roh bei 94—96° und gab bei der Mischprobe mit dem Ausgangsmaterial keine Schmelzpunktserniedrigung.

Cholansäure-methylester (IX) und 12β-Oxy-cholansäure-methylester (II) aus 11β,12β-Oxydo-cholansäure-methylester (XI).

350 mg gepulverte Nickel-Aluminium-Legierung (mit ca. 50% Nickel)[1]) wurden mit 10 cm³ 4-proz. Natronlauge versetzt und eine Stunde auf dem Wasserbad erhitzt. Nach Abdekantieren der Flüssigkeit wurden nochmals 10 cm³ Lauge zugegeben und erneut 30 Minuten erwärmt. Dann wurde der Katalysator ca. 20mal durch

[1]) Amer. Patent 1 628 190 (C. **1927** II, 653); *L. W. Covert, H. Adkins*, Am. Soc. **54**, 4116 (1932). Wir danken Herrn *M. Raney*, Chattanooga (Tenn.) für dieses Material, das er uns freundlichst zur Verfügung stellte.

Über Gallensäuren und verwandte Stoffe.
Versuche zur Herstellung von Cholen-(9)-säure

Vor kurzem beschrieben wir die Cholen-(11)-säure (entsprechend (VI))[1]) sowie einige ihrer Umsetzungsprodukte. Es sollte nun auch versucht werden, die isomere Cholen-(9)-säure (XI) zu bereiten, um ihre Reaktionen und Derivate kennen zu lernen. Diese Säure entstand neben anderen Produkten durch Reduktion des 12-Keto-cholen-(9)-säure-methylesters (X)[2]) mit Hydrazin und Alkali nach *Wolff-Kishner*[3]), doch gelang die Reinigung auch in Form des Methylesters (XII) nicht vollständig. Dieser liess sich zwar krystallisieren, ist aber offenbar isomorph mit den noch zu erwähnenden, gleichzeitig entstehenden Nebenprodukten. Ein analoger Weg zur Gewinnung der entsprechenden 3α-Oxy-cholen-(9)-säure ist von *Chakravorty* und *Wallis*[4]) beschrieben worden, doch geben diese Autoren keinerlei Beweise dafür an, dass sie den gesuchten Stoff tatsächlich erhalten haben. Aus Angaben in der Literatur ist zu entnehmen, dass α,β-ungesättigte Ketone und Aldehyde bei der Reduktion nach *Wolff-Kishner* recht verschiedene Stoffe liefern können. Wie sich (X) dabei verhalten würde, liess sich daher kaum mit Sicherheit voraussagen.

---

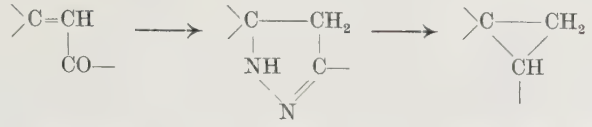
[1]) *H. B. Alther, T. Reichstein*, Helv. **25**, 805 (1942).

[2]) *J. Barnett, T. Reichstein*, Helv. **21**, 926 (1938).

[3]) Über eine andere Methode wird demnächst berichtet.

[4]) *P. N. Chakravorty, E. S. Wallis*, Am. Soc. **62**, 318 (1940), vgl. auch die Publikation von *B. B. Longwell, O. Wintersteiner*, Am. Soc. **62**, 200 (1940).

Von *Kishner* wurde vor allem die Bildung von Cyclopropan-Derivaten beobachtet, die über Pyrazoline nach folgendem Schema verläuft:



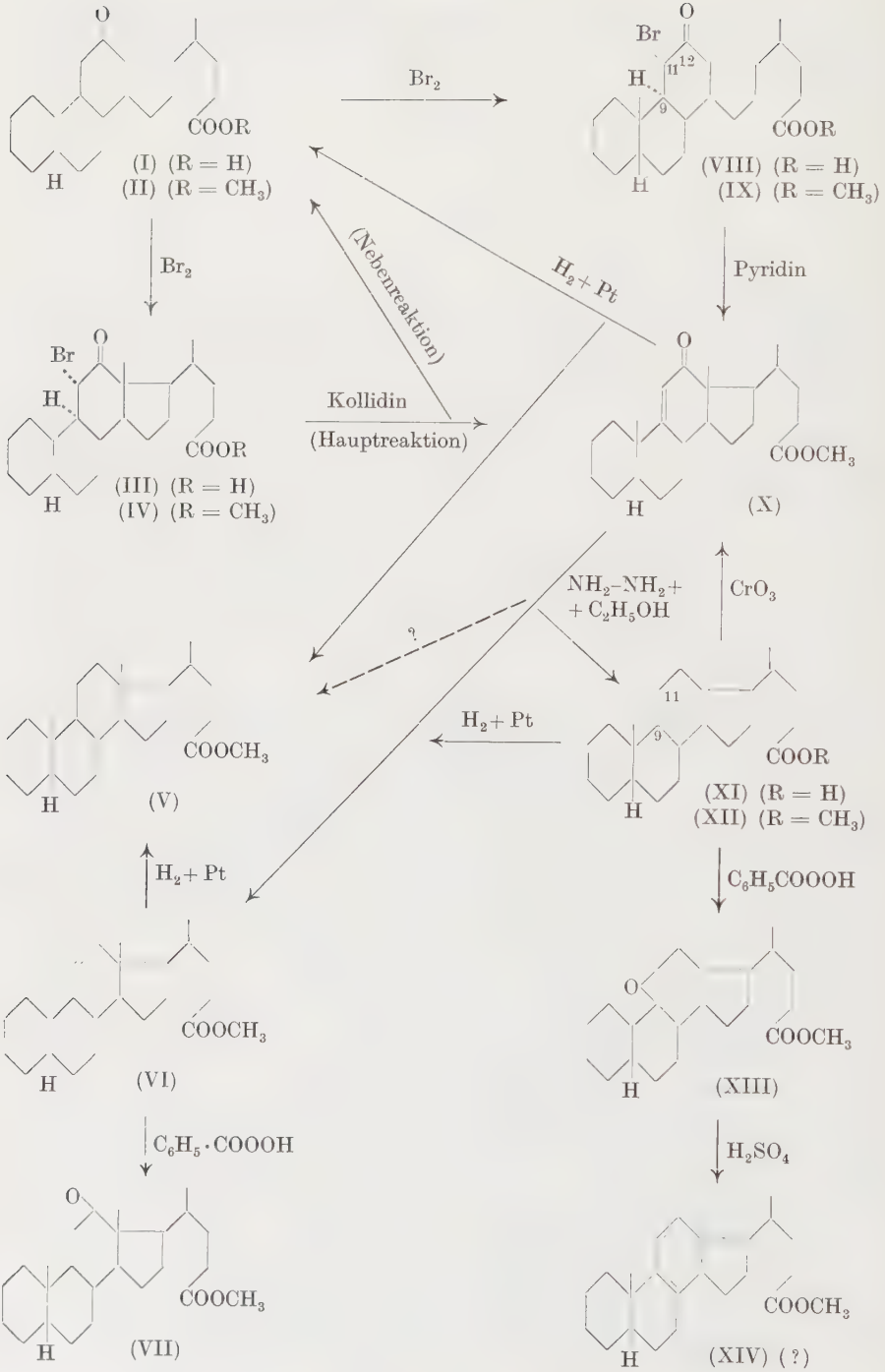
α,β-ungesättigtes Keton oder Aldehyd — Pyrazolin — Cyclopropan-Derivat

Kishner hat die Pyrazoline jeweils isoliert und sie hierauf durch Erhitzen mit Alkali und platinierten Tonscherben zersetzt. So liefert Zimtaldehyd das Phenyl-cyclopropan[1]), analog reagiert Citral[2]). Aus Phoron entsteht 1,1-Dimethyl-2-isobutenyl-cyclopropan[3]), aus Isobutyliden-aceton das 1-Methyl-2-isopropyl-cyclopropan[4]), aus Benzalaceton das 1-Methyl-2-phenyl-cyclopropan[5]), aus Benzal-acetophenon das 1,2-Diphenyl-cyclopropan[6]) und aus Furfural-aceton das 1-Methyl-2-furyl-cyclopropan[7]). Bei Dibenzal-aceton wurde dagegen ein verschiedener Reaktionsverlauf beobachtet, je nachdem ob nur 1 Mol oder ein Überschuss von Hydrazin verwendet wurde[8]). Im ersteren Falle bildete sich das Pyrazolin, das beim Erhitzen ohne Katalysator 1,2-Diphenyl-cyclopenten-(3) gab, im zweiten Fall wurde ein Hydrazino-pyrazolin erhalten, das beim Erhitzen mit Katalysatoren teilweise (unter Reduktion der Doppelbildung) 1-Phenyl-2-phenyläthyl-cyclopropan lieferte. Auch cyclische ungesättigte Ketone können Cyclopropan-Derivate geben, wenigstens wenn sich die Doppelbindung in semicyclischer Stellung befindet. Aus Pulegon wurde so Caran[9])[10])[11]) und aus Piperitenon das Caren[12])[13]) erhalten, während Carvenon, dessen Doppelbindung im Ring gelegen ist, keinen Dreiring liefert[14]).

Eine interessante Verschiebung von Doppelbindungen ohne Dreiringbildung wurde beim Furfurol beobachtet[15]), aus dem ein instabiles Isomeres des α-Methylfurans entstand.

---

[1]) *N. Kishner*, Ж. **45**, 949 (1913); C. **1913**, II, 2129.
[2]) derselbe Ж. **50**, 1 (1918); C. **1923**, III, 669.
[3]) derselbe Ж. **45**, 957 (1913); C. **1913**, II, 2130.
[4]) derselbe Ж. **45**, 987 (1913); C. **1913**, II, 2133.
[5]) derselbe Ж. **44**, 849 (1912); C. **1912**, II, 1925.
[6]) derselbe Ж. **47**, 1102 (1915); C. **1916**, I, 1063.
[7]) derselbe Bull. [4] **45**, 767 (1929); C. **1929**, II, 3011; Ж. **61**, 781 (1929); C. **1931**, II, 236.
[8]) derselbe Ж. **47**, 1819 (1915); C. **1916**, II, 318.
[9]) *N. Kishner, A. Sawadowski*, Ж. **43**, 1132 (1911); C. **1912**, I, 1456.
[10]) *N. Kishner*, Ж. **43**, 1554 (1911); C. **1912**, I, 1713.
[11]) *N. Kishner*, Ж. **44**, 165 (1912); C. **1912**, I, 2025.
[12]) *Y. R. Naves*, Helv. **25**, 737 (1942).
[13]) *Y. R. Naves, G. Papazian*, Helv. **25**, 984, 1023 (1942).
[14]) *N. Kishner*, Ж. **50**, 1 (1918); C. **1923**, III, 669.
[15]) *N. Kishner*, Ж. **1**(63), 1212 (1931); C. **1932**, II, 1173.


O
COOR
H
(I) (R = H)
(II) (R = CH3)
Br2
Br
O
H
COOR
(III) (R = H)
(IV) (R = CH3)
Br2
Br
O
H
COOR
(VIII) (R = H)
(IX) (R = CH3)
Pyridin
(Nebenreaktion)
Kollidin
(Hauptreaktion)
H2 + Pt
O
COOCH3
H
(X)
NH2–NH2 +
+ C2H5OH
CrO3
?
11
9
COOR
H
(XI) (R = H)
(XII) (R = CH3)
H2 + Pt
COOCH3
H
(V)
H2 + Pt
C6H5COOOH
COOCH3
H
(VI)
O
COOCH3
H
(XIII)
C6H5 · COOOH
H2SO4
O
COOCH3
H
(VII)
COOCH3
H
(XIV) (?)

Auch in der Sterinreihe sind Reduktionen α, β-ungesättigter Ketone nach *Wolff-Kishner* beschrieben worden. So erhielt *Lettré*[1]) aus Cholesten-(4)-on-(3) neben anderen Stoffen Cholesten-(4) und Cholesterin. *Dutcher* und *Wintersteiner*[2]) haben in einer sehr eingehenden Arbeit über die *Wolff-Kishner*-Reduktion von Keto-Steroiden vor allem auf das besondere Verhalten der 3-ständigen Ketogruppe hingewiesen und u. a. gefunden, dass beim Erhitzen von Cholestenon-semicarbazon mit Natriumäthylat die folgenden Stoffe entstehen: Koprostanol-(3α), Cholestanol-(3β), Cholesterin, Allo-cholesterin und Cholesten-(4), während nach Erhitzen von Cholestenon-Ketazin mit überschüssigem Hydrazin und Natriumalkoholat auf 200° lediglich Cholesten-(4) isoliert werden konnte. *Stange*[3]) erhielt aus Cholesten-(4)-dion-(3,6)-disemicarbazon nur Cholesten-(4) und aus dem Mono-semicarbazon nur Cholestan-diol-(3,6). *Stavely* und *Bergmann*[4]) erhitzten Cholestadien-(3,5)-on-(7)-semicarbazon mit Natriumäthylat und isolierten hierauf Cholestadien-(3,5). Hieraus lässt sich entnehmen, dass die Bildung von Dreiringen in der Steringruppe nicht bevorzugt wird, was vielleicht so zu erklären ist, dass bisher nur solche α, β-ungesättigten Ketone dieser Stoffgruppe der *Wolff-Kishner*-Reduktion unterzogen wurden, deren Doppelbildung in einem Ring gelegen ist.

Für den als Ausgangsmaterial benützten 12-Keto-cholen-(9)-säure-methylester (X) fanden *Barnett* und *Reichstein*[5]) früher einen Smp. von 92—93° und ein U. V.-Absorptionsspektrum in Hexan mit einem Maximum bei 234 mγ und log $\varepsilon = 3{,}86$. Bei einem inzwischen bereiteten Präparat von 3α-Acetoxy-12-ketocholen-(9)-säure-methylester wurde aber für das bei 241 mμ liegende Maximum des U. V.-Absorptionsspektrums in Alkohol ein log $\varepsilon = 4{,}06$ gefunden[6]). Dies führte zur Vermutung, dass das von *Barnett* und *Reichstein* beschriebene Präparat von (X) noch nicht rein gewesen ist, was sich bei der folgenden Untersuchung tatsächlich bestätigte. Wie schon von den genannten Autoren gefunden wurde, ergibt die Bromierung der Säure (I) die zwei theoretisch zu erwartenden raumisomeren 11-Brom-12-keto-cholansäuren (III) und (VIII), die sich durch fraktionierte Krystallisation trennen lassen. Als Hauptprodukt entsteht die aus Eisessig in Nadeln krystallisierende Säure (III) und in geringer Menge die empfindlichere, aus Eisessig in Blättchen krystallisierende Säure (VIII). Von *Barnett* und *Reichstein* wurde zur Bereitung von (X) das Gemisch von (III) und (VIII) verwendet. Für die folgenden Untersuchungen wurden nun die zwei Bromsäuren

[1]) *H. Lettré*, Z. physiol. Ch. **221**, 73 (1933).
[2]) *J. D. Dutcher, O. Wintersteiner*, Am. Soc. **61**, 1992 (1939).
[3]) *O. Stange*, Z. physiol. Ch. **223**, 245 (1934).
[4]) *H. E. Stavely, W. Bergmann*, J. Org. Chem. **1**, 567 (1936).
[5]) *J. Barnett, T. Reichstein*, Helv. **21**, 926 (1938).
[6]) Vgl. die demnächst erscheinende Arbeit von *E. Seebeck* und *T. Reichstein*.

zunächst durch Krystallisation möglichst getrennt und weiter in ihre Methylester (IV) und (IX) übergeführt[1]). Die bei 192—195° (Zers.) schmelzende, in Nadeln krystallisierende Säure (III) (Hauptprodukt), die relativ leicht zu reinigen ist, gab einen schwer krystallisierbaren Methylester (IV) vom Smp. zirka 65°. Die bei 171—174° (Zers.) schmelzende, in Blättchen krystallisierende Säure (VIII) (Nebenprodukt), die naturgemäss schwer zu reinigen ist, gab einen leicht in Nadeln krystallisierenden Methylester (IX) vom Smp. 78°, der sich daher zur völligen Reinigung trefflich eignet. Beide Bromester können über Aluminiumoxyd ohne wesentliche Zersetzung chromatographiert werden und lassen sich auch so weitgehend trennen und fertig reinigen. Es zeigte sich, dass entsprechend den Beobachtungen von *E. Seebeck* an den analogen 3α-Acetoxy-11-brom-12-ketoestern[2]) die Bromwasserstoffabspaltung aus den beiden raumisomeren Bromestern ganz verschieden leicht erfolgt. Der Ester (IX) vom Smp. 78° wird schon durch Kochen mit Pyridin völlig entbromt. Der so entstehende 12-Keto-cholen-(9)-säure-methylester (X) stellt das reinste bisher erhaltene Präparat dieses Stoffes dar. Es schmolz bei 89—90°, also fast gleich wie das Präparat von *Barnett* und *Reichstein*, zeigte aber in Hexanlösung ein U. V.-Absorptionsspektrum mit einem Maximum bei 235 mμ und $\log \varepsilon = 4{,}07$ (vgl. Figur 1)[3]), woraus hervorgeht, dass das alte Präparat noch mindestens 38 % einer Verunreinigung (wahrscheinlich (II)) enthalten hat. Die Mischprobe von (II) mit (X) gibt keine Schmelzpunktserniedrigung, sodass auch eine relativ grosse Beimischung von (II) in (X), ausser durch die quantitative Auswertung des Spektrums, schwer zu erkennen ist. Der bei etwa 65° schmelzende Ester (IV) blieb beim Kochen mit Pyridin praktisch unverändert. Die Entbromung konnte hingegen, wie früher beschrieben, durch Erhitzen mit Natriumacetat in Eisessig oder durch Kochen mit Kollidin[4]) erreicht werden. In beiden Fällen wurden

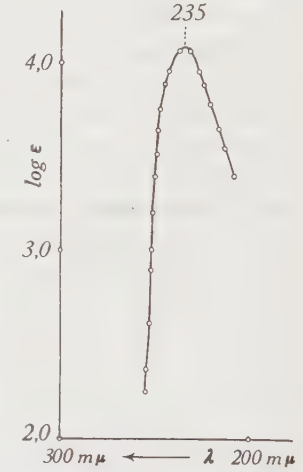


Fig. 1.
c = 0,00031 molar in Hexan.

[1]) Dieser mühsame Weg wurde gewählt, weil es sich in der erwähnten Arbeit von *E. Seebeck* gezeigt hatte, dass es bisher nur in dieser Weise möglich ist, zu einem wirklich reinen Präparat des ungesättigten Ketoesters zu gelangen.

[2]) Publikation erfolgt demnächst.

[3]) Diese und die anderen Messungen von U.V.-Absorptionsspektren verdanken wir Herrn P.-D. Dr. *H. Mohler*, Zürich.

[4]) Kollidin ist für ähnliche Zwecke von *A. Butenandt, L. Mamoli, H. Dannenberg*, B. **72**, 1617 (1939), vgl. auch *A. Butenandt, H. Dannenberg*, B. **73**, 206 (1940), vorgeschlagen worden.

Präparate erhalten, die zwar auch gut schmolzen, aber in Hexanlösung ein U. V.-Absorptionsspektrum mit einem zu tiefen Maximum (log $\varepsilon = 3{,}94$) zeigten. Es ist wahrscheinlich, dass solche Präparate etwas gesättigten Ketoester (II) enthalten[1]), der wie oben erwähnt mit (X) offenbar Mischkrystalle bildet. Bei der energischen Behandlung, die zur Bromwasserstoffabspaltung nötig ist, ist es leicht möglich, dass ein Teil des Broms reduktiv entfernt wird. Nimmt man an, dass leichte Entbromung dann eintritt, wenn das Brom- und das Wasserstoffatom in trans-Stellung zueinander liegen, so ergibt sich die folgende Nomenklatur und Formulierung: Der Ester (IX), der schon beim Kochen mit Pyridin Bromwasserstoff verliert, ist als 11β-Brom-12-keto-cholansäure-methylester (IX) zu bezeichnen. Das Bromatom liegt also vor der Tafelebene, da das 9-ständige Wasserstoffatom in den Gallensäuren als hinter der Tafelebene liegend angenommen wird[2]), und der Valenzstrich des Broms wird ausgezogen geschrieben. Der Ester (IV), der gegen siedendes Pyridin beständig ist, wird 11α-Brom-12-keto-cholansäure-methylester (IV) genannt und der Valenzstrich des hinter der Tafelebene zu denkenden Broms punktiert gezeichnet.

Bei dieser Gelegenheit soll noch eine Angabe von *Barnett* und *Reichstein*[3]) richtiggestellt werden, wonach sich der Ester (X) mit Platinoxyd in Eisessig nicht katalytisch reduzieren lässt. Dies muss auf einer Vergiftung des Katalysators beruht haben, denn wir fanden, dass sich der Ester (X) unter den genannten Bedingungen leicht hydrieren lässt, wobei ein Gemisch von Cholansäure-methylester (V) und 12β-Oxy-cholansäure-methylester entsteht. Schlussfolgerungen, die aus der schweren Reduzierbarkeit der Doppelbindung in (X) gezogen wurden[4]), sind daher aus der Literatur zu streichen.

Leider war die Ausbeute an (VIII) so klein, dass dieses Isomere als Ausgangsmaterial zur Bereitung grösserer Mengen von reinem (X) nicht in Frage kam. Für die meisten weiteren Versuche mussten daher Präparate von (X) dienen, die aus (III) oder aus dem Gemisch von (III) und (VIII) gewonnen wurden, schwächer absorbierten (log $\varepsilon = 3{,}85$ und $3{,}94$) und demnach eine Verunreinigung, wahrscheinlich (II), enthielten.

Zunächst wurden solche Präparate von (X) der Reduktion durch Erhitzen mit Hydrazin und Natriumäthylat auf 170° nach *Wolff-Kishner* unterworfen. Das entstehende Säuregemisch wurde mit Diazomethan methyliert und gab ein Methylestergemisch, aus dem sich durch Umkrystallisieren aus Methanol ein nicht ganz scharf bei

[1]) Nimmt man an, dass das Präparat mit log $\varepsilon = 4{,}07$ völlig einheitlich war, so müsste das Präparat mit log $\varepsilon = 3{,}94$ etwa 26% (II) enthalten.

[2]) *L. Ruzicka, G. Thomann,* Helv. **16,** 216 (1933).

[3]) Helv. **22,** 75 (1938).

[4]) *C. W. Shoppee,* Helv. **23,** 740 (1940) u. a.

etwa 64—68° schmelzendes Krystallisat gewinnen liess, das zwar auf die Formel $C_{25}H_{40}O_2$ stimmende Analysenwerte lieferte, aber — wie sich aus dem Folgenden ergibt — noch ein Gemisch darstellte und wahrscheinlich zumindest die drei Ester (V), (VI) und (XII) enthielt. Durch Chromatographie konnte zwar eine teilweise Auftrennung erzielt werden; wegen der ungenügenden Kontrollmöglichkeiten durch Schmelzpunktsbestimmungen gelang jedoch keine völlige Reinigung. Die katalytische Hydrierung eines analogen, aber aus reinem (X) gewonnenen Krystallisates (vgl. weiter unten) gab Cholansäure-methylester (V) (Mischprobe, keine Gelbfärbung mit Tetranitromethan), sodass es zur Hauptsache wohl Stoffe mit unverändertem Steringerüst enthält. Auf die Anwesenheit von Cholen-(9)-säure-methylester (XII) in dem genannten Krystallisat schliessen wir aus der Tatsache, dass sich bei der Oxydation mit Chromsäure der Ester (X) isolieren liess, der wohl kaum aus einem anderen Produkt als aus (XII) entstehen kann. Bei der Einwirkung von Benzopersäure auf das erwähnte Krystallisat vom Smp. 64—68° wurde ein Gemisch erhalten, aus dem sich durch Chromatographie drei Stoffe isolieren liessen, nämlich: Cholansäure-methylester (V), 11,12-Oxydocholansäure-methylester (VII)[1]), sowie in guter Ausbeute ein neues Oxyd vom Smp. 75—77°, das einen der zwei theoretisch möglichen 9,11-Oxydo-cholansäure-methylester (XIII)[2]) darstellen muss. Wir schliessen dies aus der Tatsache, dass das nach der Behandlung mit Benzopersäure erhaltene Gemisch, sowie der daraus isolierte und mit (XII) isomorphe Ester (V) mit Tetranitromethan keine Gelbfärbung mehr gab, also keinen ungesättigten Ester mehr enthielt, sodass der Ester (XII), dessen Anwesenheit im ursprünglichen Krystallisat durch die Bildung von (X) bewiesen wird, mit der Benzopersäure reagiert haben muss.

Eine starke Stütze für diese Schlussfolgerungen gab der folgende Versuch, für den ein Präparat von 12-Keto-cholen-(9)-säure-methylester (X) eingesetzt wurde, dessen U.V.-Absorptionsspektrum in Hexan ein Maximum bei 235 mμ und log $\varepsilon = 4{,}01$ zeigte, das somit relativ rein war. Bei der Reduktion mit Hydrazin und Natriumäthylat und anschliessender Methylierung wurde daraus ein bei 59—68° schmelzendes Methylestergemisch erhalten. Dieses Krystallisat erwies sich als weitgehend frei von (V) und dürfte zur Hauptsache aus (VI) und (XII) bestanden haben, denn nach Behandlung mit Benzopersäure konnte kein (V), sondern nur noch die beiden Oxydoester (VII) und (XIII) isoliert werden. An reinen Krystallen wurden 19% (VII) und 46% (XIII) gewonnen. Eine Probe des Krystallisates vom Smp. 59—68° wurde mit Platinoxyd in Eisessig

[1]) *H. B. Alther, T. Reichstein*, Helv. **25**, 805 (1942).

[2]) Nur eines derselben enthält noch das wahre Steringerüst, das andere ist in 9-Stellung raumisomer.

hydriert und gab sofort reinen Cholansäure-methylester (V), woraus hervorgeht, dass das Krystallisat vom Smp. 59—68° im wesentlichen aus Stoffen mit unverändertem Ringsystem besteht. Die gute Ausbeute an (XIII) zeigt ferner, dass es etwa 50% oder mehr an (XII) enthielt.

Schliesslich wurde noch das Verhalten von (XIII) gegen Mineralsäure geprüft. Beim Kochen mit wässriger Schwefelsäure in Methanol und Remethylierung wurde ein Ester vom Smp. 88—90° erhalten, dessen Analysenwerte gut auf die Bruttoformel $C_{25}H_{38}O_2$ passen und der, in Hexan gelöst, im U.V. starke selektive Absorption zeigte mit einem Maximum bei 245 mμ und log $\varepsilon = 4{,}13$. Es lag somit möglicherweise ein Choladiensäure-methylester vor. Gegen die nächstliegende Annahme, dass ihm die Formel (XIV) zukommt, spricht die Lage des Maximums, da zwei in einem Ring gelegene, konjugierte Doppelbindungen meist eine langwelligere Absorption ergeben[1]). Es könnte sich vielleicht um den $\Delta^{7-8,\ 9-11}$-Ester handeln, doch ist bisher nicht bewiesen, dass der Stoff noch das unveränderte Steringerüst besitzt.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

Die Bereitung von reinem 12-Keto-cholen-(9)-säure-methylester (X) ist schwierig, da die meisten Präparate eine kaum zu entfernende Verunreinigung, wahrscheinlich 12-Keto-cholansäure-methylester (II), enthalten. Das beste Kriterium für die Reinheit ist die Höhe des U.V.-Absorptionsmaximums. Es wird die Gewinnung eines Präparates beschrieben, dessen Ultraviolett-Absorptionsspektrum in Hexanlösung bei 235 mμ liegt und einen log $\varepsilon = 4{,}07$ besitzt, und das voraussichtlich weitgehend einheitlich ist. Die Gewinnung solcher Präparate war bisher nur möglich durch Isolierung des 11β-Brom-12-keto-cholansäure-methylesters und seine Verkochung mit Pyridin. Die Reduktion von solchem reinen 12-Keto-cholen-(9)-säure-methylester (X) nach *Wolff-Kishner* gibt ein Gemisch von Cholen-(11)-säure und Cholen-(9)-säure (XI), in dem letztere überwiegt, die sich aber auch in Form ihrer Methylester (VI) und (XII) bisher nicht trennen liessen. Durch Überführung des Methylestergemisches in die zugehörigen Oxyde und deren Trennung lässt sich der Gehalt ungefähr bestimmen. Reduktion von unreinen Präparaten von (X) nach *Wolff-Kishner* gibt Gemische, die ausser den zwei genannten Cholensäuren noch Cholansäure enthalten, von der sich die zwei ungesättigten Säuren auch in Form der Methylester bisher nicht glatt trennen liessen. Die Komponenten lassen sich auch in solchen ternären Gemischen nach Behandlung mit Benzopersäure nachweisen.

---

[1]) Lit. vgl. *H. Dannenberg*, Abh. Preuss. Akad. Wiss. **1939**, Math.-naturwiss. Kl. Nr. 21.

Experimenteller Teil.

Alle Schmelzpunkte sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert (Fehlergrenze ca. $\pm 2^0$).

12-Keto-cholansäure-methylester (II).

20 g des nach der vereinfachten Vorschrift von *Alther* und *Reichstein*[1]) bereiteten 12β-Oxy-cholansäure-methylesters wurden in 80 cm³ gegen Chromsäure beständigem Eisessig gelöst, unter Wasserkühlung mit der Lösung von 8 g Chromtrioxyd (1,6 Mol) in 8 cm³ Wasser und 50 cm³ Eisessig versetzt und 14 Stunden bei 18° stehen gelassen. Hierauf wurde im Vakuum bei 30° Badtemperatur auf etwa 50 cm³ eingeengt, mit Wasser versetzt und mit Äther ausgeschüttelt. Die mit verdünnter Schwefelsäure, Sodalösung und Wasser gewaschene und über Natriumsulfat getrocknete Ätherlösung wurde eingedampft und der Rückstand aus Methanol umkrystallisiert, wobei 18 g farblose Blättchen resultierten, die bei 106—108° schmolzen. Zur Analyse wurde eine Probe nochmals aus Methanol umkrystallisiert und gab farblose Blättchen vom Smp. 107—108°, die im Hochvakuum bei 80° getrocknet wurden. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{16} = -87{,}7^0 \pm 1^0$ (c = 2,024 in Aceton)[2]).

20,670 mg Subst. zu 1,0125 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{16} = +1{,}79^0 \pm 0{,}02^0$
4,026 mg Subst. gaben 11,38 mg CO_2 und 3,68 mg H_2O
$C_{25}H_{40}O_3$ (388,57) Ber. C 77,27 H 10,38%
Gef. „ 77,14 „ 10,23%

Der Ester ist, soweit wir übersehen können, erstmals von *Barnett* und *Reichstein*[3]) beschrieben, aber nicht analysiert worden. Er wurde in unserem Institut öfters auf verschiedenen Wegen bereitet und schmolz immer bei ca. 107°. Vor einigen Jahren ist von *Ohta*[4]) angegeben worden, dass derselbe Stoff aus Methanol in Blättchen krystallisieren soll, die bei 152° schmelzen. Eine solche Form ist uns nie begegnet.

Bromierung von 12-Keto-cholansäure und Trennung der Isomeren.

Zur Bereitung der 12-Keto-cholansäure (I) wurde der 12-Keto-cholansäure-methylester (II) in üblicher Weise durch kurzes Kochen mit methylalkoholischer Kalilauge verseift. Die Bromierung der 12-Keto-cholansäure (I) gelang *Barnett* und *Reichstein*[3]) nur nach der älteren Vorschrift von *Wieland* und *Posternak*[5]), die etwa 3 Mol Brom anwenden, während die spätere Vorschrift von *Wieland* und *Dane*[6])

[1]) *H. B. Alther, T. Reichstein,* Helv. **25**, 805 (1942).
[2]) Von Hrn. Dr. *H. Reich* bestimmt.
[3]) *J. Barnett, T. Reichstein,* Helv. **21**, 933 (1938).
[4]) *K. Ohta,* Z. physiol. Ch. **259**, 53 (1939).
[5]) *H. Wieland, T. Posternak,* Z. physiol. Ch. **197**, 20 (1931).
[6]) *H. Wieland, E. Dane,* Z. physiol. Ch. **216**, 99 (1933).

keine brauchbaren Resultate lieferte. Dieser Widerspruch liess sich auf die Verwendung von gewöhnlichem Eisessig zurückführen. Benützt man reinen, gegen Chromsäure beständigen Eisessig, so gibt die Methode von *Wieland* und *Dane* gute Resultate. Wir geben nachstehend eine wenig modifizierte Vorschrift, die sich stets gut reproduzieren liess:

8,6 g 12-Keto-cholansäure vom Smp. 190—192° wurden im Vakuum bei 80° gut getrocknet, in einem Rundkolben mit eingeschliffenem Rückflusskühler in 86 cm³ Eisessig (gegen Chromsäure beständig) gelöst und mit drei Tropfen 30-proz. Bromwasserstoff-Eisessiglösung versetzt. Bei einer Badtemperatur von 72—76° wurde unter Feuchtigkeitsausschluss durch einen durch den Kühler bis auf den Boden des Kolbens reichenden Tropftrichter im Verlauf von 2 Stunden die Lösung von 1,8 cm³ (= 5,5 g entspr. 1,5 Mol) Brom in 14 cm³ Eisessig zugetropft, wobei öfters umgeschwenkt wurde. Die Bromwasserstoffabspaltung war schon nach 30 Minuten recht kräftig. Nach beendigtem Eintropfen wurde noch 4—5 Stunden bei der angegebenen Temperatur gehalten. Hierauf wurde die hellbraune, klare Lösung im Vakuum bei 30° Badtemperatur vollständig eingedampft, der Rückstand in viel Äther gelöst, die Lösung mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und stark eingeengt, wobei bald Krystallisation eintrat. Die abgenutschten und mit Äther gewaschenen Krystalle schmolzen bei 189—193° und wogen 3,8 g. Durch Einengen konnten noch weitere Mengen von annähernd derselben Reinheit gewonnen werden. Unscharf schmelzende Fraktionen wurden für sich nochmals aus Äther umkrystallisiert. Es ist wichtig, auf diese Weise die hochschmelzende α-Form möglichst vollständig abzutrennen, um die Gewinnung der β-Form zu erleichtern. Im ganzen wurden 5,2 g der hochschmelzenden α-Form erhalten.

Die ätherischen Mutterlaugen wurden hierauf eingedampft (40—50° Badtemperatur), der Rückstand im Vakuum ganz von Äther befreit und vor Einsetzen der Krystallisation in wenig Eisessig gelöst, worauf bald Krystallisation eintrat. Die abgenutschten Krystalle wurden mit wenig Eisessig gewaschen und im Vakuum getrocknet. Sie wogen 2,3 g, schmolzen bei 159—176° und stellten die rohe β-Form dar.

11α-Brom-12-keto-cholansäure (III).

Die bei der Krystallisation aus Äther erhaltene, hochschmelzende Säure wurde zur Reinigung nochmals aus sehr viel Äther durch Einengen umkrystallisiert und in farblosen, sechseckigen Blättchen vom Smp. 196—197° (Zers.) erhalten. Aus Eisessig krystallisierte sie in Nadeln. Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{15} = +31{,}9° \pm 2°$ (c = 2,18 in Chloroform.

22,115 mg Subst. zu 1,0125 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{15} = +0{,}68° \pm 0{,}03°$

11α-Brom-12-keto-cholansäure-methylester (IV).

Eine Probe der 11α-Brom-12-keto-cholansäure (III) vom Smp. 196–197° wurde in Äther gelöst, mit überschüssiger ätherischer Diazomethanlösung versetzt und 15 Minuten bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Hierauf wurde stark eingeengt, die Ätherlösung mit verdünnter Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wurde mit etwas Petroläther versetzt, wobei nicht alles in Lösung ging, und mehrere Tage bei 0° stehen gelassen, wobei langsam Krystallisation unter Bildung von groben Blöcken eintrat, die gut mit kaltem Petroläther gewaschen und im Vakuum getrocknet wurden. Die Krystalle schmolzen hierauf bei 58—63°. Zur Reinigung wurde in wenig Äther gelöst, die filtrierte Lösung mit Methanol versetzt, der Äther im Vakuum entfernt und die verbleibende Lösung nach Animpfen längere Zeit bei —10° stehen gelassen, wobei wiederum sehr langsam Krystallisation eintrat. Die mit vorgekühltem Methanol gewaschenen und im Vakuum getrockneten Krystalle (Prismen) schmolzen bei 60—64°. Die Krystalle wurden nochmals in wenig Äther gelöst, die filtrierte Lösung im Vakuum eingedampft, der amorphe Rückstand in Petroläther gelöst, angeimpft und bei -10° stehen gelassen. Der wiederum sehr langsam auskrystallisierende Ester schmolz nicht besser. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{19} = -26{,}6^0 \pm 2^0$ (c = 2,107 in Aceton).

21,054 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{19} = +0{,}56' \pm 0{,}03^0$

Zur Analyse wurde 2 Stunden im Hochvakuum bei 30° getrocknet.

4,260 mg Subst. gaben 10,05 mg CO_2 und 3,18 mg H_2O
7,222 mg Subst. gaben 2,874 mg AgBr

$C_{25}H_{39}O_3Br$ (467,48) Ber. C 64,23 H 8,41 Br 17,09%
Gef. „ 64,39 „ 8,35 „ 16,93%

11β-Brom-12-keto-cholansäure (VIII).

Die 2,3 g der rohen β-Form vom Smp. 159–176° wurden zur Reinigung in Äther gelöst, die filtrierte Lösung mit 2 cm³ Eisessig versetzt und im Vakuum von Äther befreit. Die so erhaltene klare Eisessiglösung wurde mit einem ausgesuchten reinen Krystallblättchen der β-Form geimpft, worauf rasch Krystallisation eintrat. Die abgenutschten und mit wenig Eisessig gewaschenen Krystalle wurden nochmals analog umkrystallisiert und hierauf im Vakuum getrocknet. Sie stellten farblose, rautenförmige Blättchen dar, die bei 171—174° (Zers.) schmolzen. Die Ausbeute betrug 0,5 g. Die Mutterlauge wird zweckmässig über den Methylester gereinigt. Die Mischprobe mit der bei 196—197° schmelzenden α-Form schmolz bei 161—172°. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{15} = +16{,}3^0 \pm 2^0$ (c = 1,96 in Chloroform).

19,626 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{15} = +0{,}32' \pm 0{,}03^0$

11β-Brom-12-keto-cholansäure-methylester (IX).

a) Aus reiner β-Säure (VIII). 0,5 g der reinen β-Säure vom Smp. 171—174° (Zers.) wurden in Äther gelöst und mit überschüssiger ätherischer Diazomethanlösung versetzt. Nach viertelstündigem Stehen wurde etwas eingeengt, hierauf mit verdünnter Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand krystallisierte leicht aus Äther-Petroläther oder aus Methanol, wobei in beiden Fällen farblose, an den Enden schief abgeschnittene Stäbchen erhalten wurden, die bei 77—79° schmolzen. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{17} = +19{,}8° \pm 2°$ (c = 2,12 in Aceton):

21,143 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = +0{,}42° \pm 0{,}03°$

Zur Analyse wurde 2 Stunden im Hochvakuum bei 65° getrocknet.

3,783 mg Subst. gaben 8,87 mg CO_2 und 2,78 mg H_2O
6,712 mg Subst. gaben 2,676 mg AgBr

$C_{25}H_{39}O_3Br$ (467,48) Ber. C 64,23 H 8,41 Br 17,09%
Gef. „ 63,99 „ 8,23 „ 16,96%

Die Mischprobe mit dem bei 60—64° schmelzenden α-Ester (IV) schmolz bei 56—74°.

b) Aus unreiner β-Säure (VIII). Die verbleibenden Mutterlaugen der 11β-Brom-12-keto-cholansäure (VIII) vom Smp. 159 bis 174° wurden analog mit Diazomethan methyliert. Der erhaltene amorphe Methylester wurde nach der Durchlaufmethode über 30 Teile Aluminiumoxyd chromatographisch getrennt. Die ersten mit Petroläther-Benzol-Gemischen eluierbaren Anteile lieferten noch reichliche Mengen des gut krystallisierenden β-Esters (IX) vom Smp. 77—79°. Die weiteren mit Petroläther-Benzol-Gemischen von steigendem Benzolgehalt eluierbaren Anteile enthielten zur Hauptsache den α-Ester, der sich aber infolge seiner schlechten Krystallisierbarkeit nur schwer auf diesem Wege rein erhalten liess.

12-Keto-cholen-(9)-säure-methylester (X).

a) Reinstes Produkt aus 11β-Brom-12-keto-cholansäure-methylester (IX). 1,1 g 11β-Brom-12-keto-cholansäure-methylester (IX) vom Smp. 77—79° wurden mit 5 cm³ absolutem Pyridin 3 Stunden unter Rückfluss gekocht (Badtemperatur 150°). Hierauf wurde das Pyridin im Vakuum abgedampft und der Rückstand mit verdünnter Schwefelsäure und Äther in einen Scheidetrichter gespült. In der abgetrennten sauren Schicht liessen sich reichlich Bromionen nachweisen. Die ätherische Lösung wurde mehrmals mit verdünnter Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wurde im Molekularkolben bei 0,005 mm Druck und 170° Badtemperatur destilliert und

das Destillat dreimal aus Methanol umkrystallisiert, wobei 650 mg farbloser Nadeln erhalten wurden, die bei 89–90° schmolzen und im U. V.-Absorptionsspektrum in Hexan ein Maximum bei 235 mμ und log ε = 4,07 zeigten. (Vgl. Theoretischer Teil.) Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{20} = +93{,}1^0 \pm 2^0$ (c = 2,32 in Methanol).

23,197 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{20} = +2{,}16^0 \pm 0{,}03^0$

Die Mischprobe mit dem bei 108° schmelzenden 12-Keto-cholansäure-methylester (II) schmolz bei 88–100°. Die Substanz gab, in wenig Chloroform gelöst, mit Tetranitromethan keine Gelbfärbung. Zum Unterschied von weniger reinen Präparaten schied sich dieser reine Ester bei langsamer Krystallisation aus Methanol immer in Nadeln aus. Lediglich durch plötzliches Abkühlen der stark verdünnten Lösung in Methanol auf —80° liess sich öfters auch eine in Blättchen krystallisierende Modifikation gewinnen, die bei etwa 72–74° schmolz, bei weiterem Erwärmen aber meist sofort rekrystallisierte, um bei 88–90° definitiv zu schmelzen. Liegt einmal etwas reine Blättchenform vor, so lässt sie sich wieder erhalten, wenn die auf etwa —40° unterkühlte Methanollösung damit angeimpft wird. Erneutes Umkrystallisieren der Blättchen aus Methanol bei nicht zu tiefer Temperatur gab stets wieder die Nadelform. Unreine Präparate von (X) lieferten hingegen auch bei langsamer Krystallisation oft bevorzugt und spontan die Blättchenform, die sich oft sogar nach Animpfen mit der Nadelform abschied.

b) Aus 11α-Brom-12-keto-cholansäure-methylester (IV).

1. Verkochungsversuch mit Pyridin. 100 mg 11α-Brom-12-keto-cholansäure-methylester (IV) vom Smp. 59–64° wurden mit 1 cm³ Pyridin 3 Stunden unter Rückfluss gekocht. Nach Eindampfen im Vakuum wurde mit Äther und verdünnter Schwefelsäure in einen Scheidetrichter gespült. In der schwefelsauren Schicht konnten keine Bromionen nachgewiesen werden. Die Ätherlösung lieferte nach Waschen mit verdünnter Salzsäure, Sodalösung und Wasser, sowie Trocknen über Natriumsulfat und Eindampfen einen Rückstand, der 95 mg wog und aus Petroläther nach langem Stehen bei 0° Krystalle vom Smp. 58–64° lieferte, die sich als unverändertes Ausgangsmaterial erwiesen.

2. Durch Kochen mit Kollidin. 835 mg 11α-Brom-12-keto-cholansäure-methylester (IV) wurden zur völligen Trocknung kurz im Vakuum auf 100° erwärmt und dann mit 4,5 cm³ frisch destilliertem Kollidin 5 Stunden unter Rückfluss gekocht (Ölbad 215°). Bei der wie oben durchgeführten Aufarbeitung konnten in der schwefelsauren Waschlösung reichlich Bromionen nachgewiesen werden. Die neutral gewaschene und getrocknete Ätherlösung hinterliess 640 mg Rohprodukt, das nach Umkrystallisieren aus Methanol meist

farblose Blättchen lieferte, die bei 75–77° schmolzen, dann wieder krystallisierten, um bei 85—88° definitiv zu schmelzen. Auch die Nadelform konnte gelegentlich erhalten werden. Beide gaben unter sich und bei der Mischprobe mit dem reinsten aus (IX) bereiteten Präparat keine Schmelzpunkterniedrigung. Im U. V.-Absorptionsspektrum in Hexan wurde das Maximum bei 233 mμ und log ε = 3,94 gefunden.

3. Durch Erhitzen mit Natriumacetat. 100 mg 11α-Brom-12-keto-cholansäure-methylester (IV) vom Smp. 59–64° wurden nach der Vorschrift von *Barnett* und *Reichstein*[1]) behandelt und lieferten ebenfalls den Ester (X), der erst nach mehrmaligem Umkrystallisieren gut schmolz.

c) Aus dem Gemisch der Isomeren (IV) und (IX). 2,6 g eines Methylestergemisches der beiden Isomeren (IV) und (IX), das zur Hauptsache die α-Form enthielt, wurden mit 18 cm³ Kollidin verkocht und lieferten 1,94 g Rohprodukt, das aus Methanol zur Hauptsache wieder die Blättchenform vom Smp. 75—77° und 85—88° lieferte. Nur eine kleine Menge Nadeln, die direkt bei 84–86° schmolzen, wurde erhalten. Die Blättchenform gab bei der Mischprobe mit dem reinsten aus (IX) gewonnenen Produkt wiederum keine Schmelzpunktserniedrigung und bei der Analyse stimmende Werte.

3,828 mg Subst. gaben 10,906 mg CO_2 und 3,407 mg H_2O

$C_{25}H_{38}O_3$ (386,56) Ber. C 77,67 H 9,91%
Gef. „ 77,75 „ 9,96%

Wie sich jedoch aus dem Spektrum ergibt, war dieses Präparat relativ unrein. Das Maximum in Hexanlösung lag bei 235 mμ und log ε = 3,85.

12-Keto-cholen-(9)-säure.

25 mg reiner 12-Keto-cholen-(9)-säure-methylester (X) wurden mit der Lösung von 30 mg Kaliumhydroxyd in 50 mg Wasser und 1,5 cm³ Methanol 30 Minuten unter Rückfluss gekocht. Nach Zusatz von Wasser wurde das Methanol im Vakuum entfernt, der Rückstand mit viel Salzsäure versetzt und mit Äther ausgeschüttelt. Die mit Wasser gewaschene und über Natriumsulfat getrocknete Ätherlösung hinterliess beim Eindampfen 24 mg Rückstand, der nach zweimaligem Umkrystallisieren aus Petroläther farblose Krystalldrusen lieferte, die bei 145—146° schmolzen. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

3,710 mg Subst. gaben 10,532 mg CO_2 und 3,254 mg H_2O

$C_{24}H_{36}O_3$ (372,53) Ber. C 77,37 H 9,74%
Gef. „ 77,47 „ 9,81%

[1]) *J. Barnett, T. Reichstein*, Helv. **21**, 934 (1938).

Hydrierung von 12-Keto-cholen-(9)-säure-methylester (X).

40 mg reinster, aus (IX) gewonnener 12-Keto-cholen-(9)-säure-methylester (X) vom Smp. 89—90° wurden mit 15 mg Platinoxyd in 3 cm³ reinstem Eisessig hydriert. Die Gasaufnahme war schon nach einer Stunde beendet, doch wurde im ganzen 3 Stunden geschüttelt. Nach Filtration wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand in Äther aufgenommen, die Lösung mit verdünnter Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Da der Rückstand sehr unscharf schmolz, wurde er nach der Durchlaufmethode über 1 g Aluminiumoxyd chromatographisch getrennt. Die ersten mit Petroläther eluierbaren Anteile schmolzen bei 81° und erwiesen sich nach Mischprobe als identisch mit Cholansäure-methylester (V). Die weiteren mit Petroläther-Benzol eluierbaren Anteile lieferten aus Methanol flache, gerade abgeschnittene Blättchen vom Smp. 117—119°. Die Mischprobe mit 12 β-Oxycholansäure-methylester vom Smp. 120° gab keine Schmelzpunktserniedrigung. Diese Krystalle und die zugehörigen Mutterlaugen (zusammen 25 mg) wurden in 0,5 cm³ Eisessig gelöst und nach Zusatz von 3 cm³ 2-proz. Chromtrioxyd-Eisessiglösung 16 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Die übliche Aufarbeitung lieferte 22 mg Rückstand, der aus Methanol in farblosen Blättchen vom Smp. 105—107° krystallisierte. Die Mischprobe mit 12-Keto-cholansäure-methylester (Smp. 107°) gab keine Schmelzpunktserniedrigung. Im U. V.-Absorptionsspektrum wurden keine Messpunkte gefunden, die ungesättigtem Ester entsprechen würden.

Reduktion von 12-Keto-cholen-(9)-säure-methylester (X) mit Hydrazin und Natriumäthylat.

a) Von unreinem 12-Keto-cholen-(9)-säure-methylester (X). 0,9 g 12-Keto-cholen-(9)-säure-methylester (X) (Präparat der Blättchenform vom Smp. 75—77° und 85 -88°, das im U. V.-Absorptionsspektrum in Hexan ein Maximum bei 235 mμ und log ε = 3,85 zeigte) wurden mit 4,5 cm³ Hydrazinhydrat und 18 cm³ einer frisch aus 1 g Natrium und 20 cm³ absolutem Alkohol bereiteten Natriumäthylatlösung vermischt, in einem Bombenrohr im Vakuum eingeschmolzen und 14 Stunden auf 175° erhitzt. Nach Abkühlen und Öffnen des Rohres wurde merklicher Gasdruck festgestellt. Der Inhalt wurde im Vakuum von Äthanol befreit, der Rückstand mit verdünnter Salzsäure bis zur kongosauren Reaktion versetzt, mit Äther ausgeschüttelt, die Lösung mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Es verblieben 800 mg rohe Säure, die in Äther gelöst und mit ätherischer Diazomethanlösung 15 Minuten methyliert wurde. Hierauf wurde mit verdünnter Salzsäure, Soda-

lösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, eingedampft und zweimal aus Methanol umkrystallisiert, wobei 500 mg lange Nadeln vom Smp. 65—68° resultierten. In der Mutterlauge verblieben 266 mg amorphes Material. Die Krystalle gaben, in wenig Chloroform gelöst, mit Tetranitromethan eine deutliche Gelbfärbung. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{21} = +32{,}9^0 \pm 2^0$ (c = 1,882 in Aceton).

18,80 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{21} = +0{,}62^0 \pm 0{,}03^0$

Die Mischprobe mit Cholen-(11)-säure-methylester vom Smp. 59 bis 61° schmolz bei etwa 55°, diejenige mit Cholansäure-methylester (85°) bei 68—82°. Zur Analyse wurde 2 Stunden im Hochvakuum bei 60° getrocknet.

2,836 mg Subst. gaben 8,335 mg CO_2 und 2,902 mg H_2O

$C_{25}H_{40}O_2$ (372,57)	Ber. C 80,59	H 10,82%
$C_{25}H_{42}O_2$ (374,59)	Ber. „ 80,16	„ 11,30%
	Gef. „ 80,24	„ 11,45%

b) Von fast reinem 12-Keto-cholen-(9)-säure-methylester (X). 650 mg eines Präparates der Nadelform des 12-Keto-cholen-(9)-säure-methylesters, dessen U.V.-Absorptionsspektrum in Hexan ein Maximum mit einem log $\varepsilon = 4{,}01$ zeigte, der also relativ rein war, wurde analog mit Hydrazin und Alkali reduziert. Der aus dem Reduktionsgemisch mit Diazomethan bereitete Methylester (490 mg) wurde chromatographisch über Aluminiumoxyd gereinigt und gab 380 mg mit Petroläther leicht eluierbare Anteile und daraus durch Umkrystallisieren aus Methanol 200 mg farbloser Krystalle vom Smp. 59—68°. Das Produkt gab, in wenig Chloroform gelöst, mit Tetranitromethan eine deutliche Gelbfärbung. Zur Analyse wurde im Schiffchen im Hochvakuum bei 70° getrocknet.

3,144 mg Subst. gaben 9,293 mg CO_2 und 3,019 mg H_2O

$C_{25}H_{40}O_2$ (372,57)	Ber. C 80,59	H 10,82%
	Gef. „ 80,66	„ 10,74%

Cholansäure-methylester (V) aus (VI) und (XII).

35 mg des obigen Krystallisates vom Smp. 59—68° (aus Versuch b)) wurden in 3 cm³ Eisessig gelöst und nach Zusatz von 10 mg Platinoxyd in Wasserstoffatmosphäre geschüttelt. Nach 20 Minuten waren 3,9 cm³ Wasserstoff aufgenommen. Obwohl eine weitere Gasaufnahme nicht beobachtet werden konnte, wurde zur Sicherheit noch 12 Stunden weiter geschüttelt. Nach Filtration wurde eingedampft, der Rückstand in Äther gelöst, die Lösung mit verdünnter Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand (31 mg) lieferte nach zweimaligem Umkrystallisieren aus Methanol farblose Nadeln, die bei 83—85° schmolzen und mit Tetranitromethan keine Gelbfärbung mehr gaben. Die Mischprobe mit Cholansäure-methylester (V) (Smp. 84—85°) gab keine Schmelzpunktserniedrigung.

12-Keto-cholen-(9)-säure-methylester (X) aus (XII).

60 mg des Krystallisates vom Smp. 64—68° (roher Cholen-(9)-säure-methylester (XII) aus Versuch a)) wurden mit 1,2 cm³ 2-proz. Chromtrioxyd-Eisessiglösung (= 24 mg CrO_3) 20 Stunden bei 20° stehen gelassen. Hierauf wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand mit Wasser versetzt, mit Äther ausgeschüttelt, die Ätherlösung mit verdünnter Schwefelsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand (51 mg) wurde über 1,5 g Aluminiumoxyd nach der Durchlaufmethode chromatographisch getrennt. Die ersten mit Petroläther eluierbaren Anteile lieferten aus Methanol prismatische Krystalle, die bei 62—64° schmolzen und mit dem Ausgangskrystallisat bei der Mischprobe keine Schmelzpunktserniedrigung gaben. Die weiteren mit Benzol eluierbaren Anteile, welche die Hauptmenge darstellten, krystallisierten aus Methanol in Blättchen, die bei 74° schmolzen, hierauf wieder erstarrten, um bei 85—87° erneut zu schmelzen. Die Mischprobe mit 12-Keto-cholen-(9)-säure-methylester (X) gab keine Schmelzpunktserniedrigung. Die Mischprobe mit dem Krystallisat vom Smp. 64—68° schmolz bei 63—74°. Im U. V.-Absorptionsspektrum (Hexanlösung) wurde ein Maximum bei 235 mμ und log ε = 3,85 gefunden, also ähnlich wie bei den nicht ganz reinen Präparaten von (X). Zur Analyse wurde unmittelbar vor der Verbrennung im Vakuum bei 85° geschmolzen.

3,735 mg Subst. gaben 10,617 mg CO_2 und 3,319 mg H_2O
$C_{25}H_{38}O_3$ (386,56) Ber. C 77,67 H 9,91%
Gef. „ 77,57 „ 9,94%

9,11-Oxydo-cholansäure-methylester (XIII).

1) Aus Krystallisat vom Smp. 64—68° aus Versuch a).

500 mg des Krystallisates vom Smp. 64—68° (roher Cholen-(9)-säure-methylester (XII) aus Versuch a)) wurden mit 5,24 cm³ einer Lösung von 372 mg (= 2 Mol) Benzopersäure in Chloroform versetzt und 16 Stunden im Dunkeln bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Hierauf wurde mit verdünnter Essigsäure und Kaliumjodid versetzt und in üblicher Weise mit Natriumthiosulfatlösung titriert, wobei sich ein Verbrauch von 1,1 Mol Benzopersäure ergab. Das austitrierte Gemisch wurde mit Wasser und Äther in einen Scheidetrichter gespült, die Ätherlösung mehrmals mit verdünnter Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand (540 mg) liess sich aus Methanol leicht krystallisieren, doch erwies es sich als besser, die ganze Menge über Aluminiumoxyd (18 g) nach der Durchlaufmethode chromatographisch zu trennen. Die ersten mit Petroläther eluierbaren Anteile lieferten beim Umkrystallisieren aus Methanol flache Nadeln vom Smp. 84—85°, die

sich nach Mischprobe und Analyse als Cholansäure-methylester (V) erwiesen. Sie gaben, in wenig Methanol gelöst, auf Zusatz von Tetranitromethan keine Gelbfärbung. Zur Analyse wurde eine Probe 2 Stunden im Hochvakuum bei 70° getrocknet.

3,605 mg Subst. gaben 10,634 mg CO_2 und 3,549 mg H_2O
$C_{25}H_{42}O_2$ (374,59) Ber. C 80,16 H 11,30%
Gef. „ 80,50 „ 11,02%

Die weiteren mit Benzol-Petroläther (1:4) eluierbaren Anteile lieferten beim Umkrystallisieren aus Methanol 100 mg farblose gerade abgeschnittene Nadeln vom Smp. 72—74°. Die Substanz gab, in wenig Chloroform gelöst, auf Zusatz von Tetranitromethan keine Gelbfärbung. Die Mischprobe mit Cholansäure-methylester vom Smp. 84—85° gab keine eindeutige Schmelzpunktserniedrigung, ebensowenig diejenige mit 11,12-Oxydo-cholansäure-methylester vom Smp. 97—98°. Hingegen gab die Mischprobe mit der Blättchenform des 12-Keto-cholen-(9)-säure-methylesters vom Smp. 74—76° eine kleine, aber deutliche Erniedrigung; die Mischung schmolz bei 67 bis 70°. Zur Analyse wurde das Material nochmals aus Methanol umkrystallisiert und im Hochvakuum 2 Stunden bei 64° getrocknet. Es schmolz hierauf bei 74,5—76° und zeigte die spez. Drehung: $[\alpha]_D^{13} = +18{,}8^0 \pm 2^0$ (c = 1,437 in Aceton).

14,366 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{13} = +0{,}27^0 \pm 0{,}02^0$
3,674 mg Subst. gaben 10,405 mg CO_2 und 3,431 mg H_2O
$C_{25}H_{40}O_3$ (388,57) Ber. C 77,27 H 10,38%
Gef. „ 77,29 „ 10,45%

Diese Krystalle dürften somit den 9,11-Oxydo-ester (XIII) darstellen.

Die weiteren mit Petroläther-Benzol-Gemischen von über 20% Benzolgehalt eluierbaren Anteile lieferten nach Umkrystallisieren aus Methanol 11,12-Oxydo-cholansäure-methylester vom Smp. 97 bis 98° (Mischprobe).

Auch die 266 mg amorphe Mutterlaugen des Rohkrystallisates vom Smp. 65—68° (roher Cholen-(9)-säure-methylester (XII)) wurden analog mit Benzopersäure oxydiert und lieferten bei der Chromatographie zunächst dieselben drei Stoffe. Ein weiterer Stoff wurde noch aus den mit Benzol-Äther eluierbaren Fraktionen erhalten. Nach zweimaligem Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther bildete er lange, farblose Nadeln, die bei 140—143° schmolzen. Zur Analyse wurde 2 Stunden im Hochvakuum bei 100° getrocknet.

3,663 mg Subst. gaben 9,986 mg CO_2 und 3,186 mg H_2O
$C_{25}H_{38}O_4$ (402,55) Ber. C 74,59 H 9,51%
Gef. „ 74,40 „ 9,73%

Nach der Analyse könnte es sich um ein Dioxyd oder ein Ketooxyd handeln, das seine Entstehung einer doppelt ungesättigten Verbindung im Rohkrystallisat verdankt.

2) Aus Krystallisat vom Smp. 59—68° aus Versuch b).

125 mg des Krystallisates vom Smp. 59—68° (aus Versuch b)) wurden mit der Lösung von 125 mg Benzopersäure in 5 cm³ Chloroform 16 Stunden bei 20° stehen gelassen. Die wie oben beschrieben durchgeführte Aufarbeitung gab nach chromatographischer Trennung 60 mg reinen 9,11-Oxydo-ester (XIII) vom Smp. 72—74° und 25 mg 11,12-Oxydo-ester (VII) vom Smp. 96—98°. Aus den ersten mit Petroläther eluierten Anteilen wurden daneben 23 mg öliges Material erhalten, aus dem sich etwas Krystalle abschieden, die bei 51—55° schmolzen. Cholansäure-methylester konnte daraus nicht isoliert werden.

Behandlung von 9,11-Oxydo-cholansäure-methylester (XIII) mit wässriger Schwefelsäure.

50 mg 9,11-Oxydo-cholansäure-methylester (XIII) vom Smp. 72—74° wurden in einem Rundkolben mit eingeschliffenem Rückflusskühler mit 0,2 cm³ einer Mischung gleicher Gewichtsteile Wasser und konz. Schwefelsäure versetzt. Hierauf wurde so viel Methanol zugegeben, dass in der Siedehitze eben klare Lösung eintrat und diese 30 Minuten unter Rückfluss gekocht. Nach Verdünnen mit Wasser wurde das Methanol im Vakuum entfernt, der Rückstand mit Äther ausgeschüttelt, mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und mit ätherischer Diazomethanlösung versetzt. Nach 15 Minuten wurde mit verdünnter Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand krystallisierte aus Methanol in rechteckigen Blättchen vom Smp. 88—90°. Zur Analyse wurde 1 Stunde im Hochvakuum bei 60° getrocknet.

2,500 mg Subst. gaben 7,415 mg CO_2 und 2,322 mg H_2O

$C_{25}H_{38}O_2$ (370,56) Ber. C 81,02 H 10,34%

Gef. „ 80,94 „ 10,39%

Die Substanz gibt, in wenig Chloroform gelöst, auf Zusatz von Tetranitromethan eine starke Braunfärbung. Das U. V.-Absorptionsspektrum in Hexan zeigte ein Maximum bei 245 mμ und log ε = 4,13. Die Mischprobe mit Cholansäure-methylester vom Smp. 84—85° schmolz bei 75—83°.

Einwirkung von Eisessig auf 9,11-Oxydo-cholansäure-methylester (XIII).

50 mg 9,11-Oxydo-cholansäure-methylester (XIII) vom Smp. 72—74° wurden mit 0,5 cm³ reinstem Eisessig 3 Stunden unter Rückfluss gekocht. Nach Eindampfen im Vakuum wurde mit Wasser versetzt, mit Äther ausgeschüttelt, die ätherische Lösung mit Wasser

gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und mit ätherischer Diazomethanlösung bis zur bleibenden Gelbfärbung versetzt. Nach 15 Minuten wurde mit verdünnter Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand lieferte aus Petroläther etwa 5 mg kurze Prismen vom Smp. 184—198°. Das Produkt ist nicht weiter untersucht worden.

Die Mikroanalysen wurden im mikroanalytischen Laboratorium der Eidg. Techn. Hochschule, Zürich (Leitung *H. Gubser*) ausgeführt.

Curriculum vitae.

Als Tochter von Hulda und Otto Alther-Forrer wurde ich, Hedwig Barbara Alther, am 20. September 1914 in Mörschwil bei St. Gallen geboren. Nach 6 Jahren Primar- und 2 Jahren Sekundarschule trat ich in die Mädchenrealschule der Stadt St. Gallen ein. Anschliessend besuchte ich das Gymnasium der Töchterschule Zürich, wo ich im Jahre 1935 die Eidgen. Maturitätsprüfung ablegte.

Im Herbst desselben Jahres schrieb ich mich an der Eidgen. Techn. Hochschule für das Studium der Chemie ein, das ich 1939 mit dem Diplom abschloss. Eine Doktorarbeit, mit deren Durchführung ich anschliessend im Laboratoire de la Chimie Thérapeutique unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. E. Fourneau am Institut Pasteur in Paris begonnen hatte, musste ich wegen Ausbruch des Krieges vorzeitig abbrechen.

Ich wandte mich daraufhin zu Beginn des Wintersemesters 1939/40 nach Basel, wo ich unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. T. Reichstein am Pharmazeutischen Institut mit der Durchführung der Versuche beschäftigt war, die den Gegenstand der vorliegenden Dissertation bilden.

Während meiner Studienzeit besuchte ich Vorlesungen und Praktika bei den Herren Professoren und Dozenten: E. Baur, C. Burri, Ch. Clerc, R. Doerr, R. Eder, S. Edlbacher, H. E. Fierz-David, H. Flück, M. Furter, W. v. Gonzenbach, A. Guyer, W. Kummer, K. Meyer, P. Niggli, R. Parker, G. Polja, T. Reichstein, P. Ruggli, L. Ruzicka, P. Scherrer, W. D. Treadwell.

Allen diesen Herren sei für ihre Bemühungen bestens gedankt.

Meinem sehr verehrten Lehrer,

Herrn Professor Dr. *T. Reichstein*,

unter dessen Leitung die vorliegende Arbeit entstanden ist, danke ich herzlich für das nie ermüdende Interesse, das er mir entgegenbrachte und die vielen Anregungen, die ich von ihm empfangen durfte.

Basel, den 15. Juni 1942.